
**Aus der
Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

Direktor: Prof. Dr. Peter Falkai

**Das DRD2-Gen und seine Bedeutung in der
Schizophrenie**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

von

Alexander Jörg Bunk

aus Augsburg

2018

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dan Rujescu

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Michael Soyka

Mitbetreuung durch die
promovierte Mitarbeiterin: Frau Dr. rer. biol. hum. I. Giegling

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 20.12.2018

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	5
1.1	Das Krankheitsbild der Schizophrenie	5
1.1.1	Definition	5
1.1.2	Epidemiologie	5
1.1.3	Krankheitsbild	8
1.1.4	Klassifikation	12
1.1.5	Verlauf.....	14
1.1.6	Prognose und Therapie	16
1.1.7	Pathophysiologie.....	18
1.1.7.1	Dopamin-Hypothese.....	18
1.1.7.2	Glutamat-Hypothese	21
1.1.7.3	Interaktion von Dopamin und Glutamat.....	22
1.1.8	Ätiologie	23
1.1.8.1	Genetische Faktoren	25
1.1.8.2	Umweltfaktoren.....	26
1.1.8.3	Schizophrenie als Hirnentwicklungsstörung.....	28
1.2	Molekulargenetik der Schizophrenie.....	30
1.2.1.1	Kopplungsanalysen	31
1.2.1.2	Assoziationsstudien.....	33
1.3	Kognitive Endophänotypen	36
1.3.1	Das Konzept der Endophänotypen	36
1.3.2	Eignung neurokognitiver Leistungsdefizite als Endophänotyp.....	38
1.3.3	Gedächtnis	40
1.3.4	Gedächtnisdefizite bei Schizophrenie	43
1.4	Dopamin-Rezeptoren	44
1.4.1	Der Dopamin-D ₂ -Rezeptor	44
1.4.1.1	Der D ₂ -Rezeptor in der Schizophrenie	48
1.4.1.2	D ₂ -Rezeptoren und Gedächtnis.....	49
1.4.2	Das Dopamin-D ₂ -Rezeptorgen DRD2.....	50
1.4.2.1	Das DRD2-Gen und Schizophrenie	51
1.4.2.2	Das DRD2 Gen und Gedächtnisleistung	56
1.5	Fragestellung	59
2	Material und Methoden	60
2.1	Vorbedingungen und Studiendesign.....	60
2.2	Datengewinnung	60
2.3	Stichprobe	61
2.3.1	Fall-Kontroll-Assoziationsstudie	61

2.3.2	Assoziation mit dem Endophänotyp Gedächtnisleistung	64
2.4	Wechsler Gedächtnistest – Revidierte Fassung	65
2.4.1	Beschreibung der Untertests	65
2.4.2	Auswertung der WMS-R	67
2.5	Laborverfahren.....	68
2.5.1	DNA-Extraktion	68
2.5.2	DNA-Konzentrationseinstellung	70
2.5.3	Genotypisierung	72
2.6	Qualitätskontrolle	77
2.7	Statistische Methoden.....	78
3	Ergebnisse.....	79
3.1	Variablenbeschreibung	79
3.1.1	Alter, Geschlecht, Bildung der Stichprobe	79
3.1.2	SNP-Charakteristika.....	81
3.2	Assoziation mit Schizophrenie	84
3.3	Assoziation mit dem Endophänotyp Gedächtnisleistung	89
3.4	Haplotyp-Analyse des DRD2 Gens.....	94
3.4.1	Analyse der Blockstruktur	94
3.4.2	Analyse der Haplotypen auf Assoziation mit Gedächtnisleistung	95
3.4.3	Zusammenfassung	97
4	Diskussion	99
4.1	Zusammenfassung der Ergebnisse	99
4.2	Diskussion der Methodik.....	100
4.3	Interpretation der Ergebnisse.....	108
4.3.1	Interpretation der Fall-Kontroll-Stichprobe	108
4.3.2	Interpretation der Endophänotyp-Stichprobe	110
4.3.3	Haplotyp-Analyse	113
4.4	Ausblick auf zukünftige Untersuchungen	114
5	Zusammenfassung	118
6	Abkürzungsverzeichnis.....	120
7	Literaturverzeichnis	121
8	Danksagung.....	143
9	Eidesstattliche Versicherung.....	144

1 Einleitung

1.1 Das Krankheitsbild der Schizophrenie

„Schizophrenie ist ein Syndrom: ein Gebilde von Anzeichen und Symptomen unbekannter Ätiologie, das sich in erster Linie durch beobachtbare Zeichen einer Psychose definiert. Die Schizophrenie geht dabei meist mit paranoiden Wahnvorstellungen und akustischen Halluzinationen im späten Adoleszenz- oder frühen Erwachsenenalter einher. Diese Krankheitsausprägungen haben sich im Verlauf des letzten Jahrhunderts nur wenig verändert“ (Insel, 2010).

1.1.1 Definition

Unter Schizophrenie wird eine Gruppe von psychiatrischen Erkrankungen verstanden, die im Allgemeinen durch grundlegende und charakteristische Störungen von Denken und Wahrnehmung sowie inadäquate oder verflachte Affektivität (Gefühls- und Gemütsleben) gekennzeichnet sind (DIMDI, 2013).

1.1.2 Epidemiologie

Die Epidemiologie befasst sich mit der Erforschung der Verbreitung, Ursache und Folge von Krankheiten in der Bevölkerung. Drei wichtige Maße der epidemiologischen Statistik sind Inzidenz, Prävalenz und Mortalität. Die Statistik zeigt, dass Schizophrenie eine weltweit vorkommende, relativ häufige und schwerwiegende Erkrankung ist, die mit enormen volkswirtschaftlichen und gesellschaftlichen Belastungen verbunden ist.

Inzidenz

Die Inzidenz – die Anzahl an Neuerkrankungen pro Jahr pro 100.000 Einwohner – der Schizophrenie wird im Median auf 15,2 Erkrankte pro 100.000 Einwohner beziffert. Die Spannweite der Inzidenz reicht von 7 bis 43 Erkrankten pro 100.000 Einwohner. Diese große Spannweite wird heute als Ausdruck regionaler

Schwankungen bei der Häufigkeitsverteilung angesehen. So ist die Inzidenz an manchen Orten fünffach höher als an anderen Orten und das in Industrienationen, Schwellenländern und Entwicklungsländern gleichermaßen (McGrath et al., 2008). Neben regionalen Unterschieden sind auch einzelne Bevölkerungsgruppen in verschiedenem Maße betroffen. Statistische Daten einer Meta-Analyse zeigten, dass Männer (1,4-faches Risiko), Migranten (4,6-faches Risiko) und Menschen aus urbanen Regionen (1,4-faches Risiko) eine erhöhte Inzidenz aufweisen (McGrath et al., 2008). Möglicherweise übt das weibliche Geschlechtshormon Östrogen eine Schutzwirkung auf Frauen aus, dessen Senkung in der Menopause dann den zweiten Altersgipfel hervorruft (Hayes et al., 2012).

Bei Migranten wäre es denkbar, dass der Effekt unmittelbar mit dem Vorgang oder Ereignissen während der Migration zusammenhängt (beispielsweise Orientierungsprobleme, Traumata). Dass das alleine nicht der Fall sein kann, zeigt sich daran, dass auch Kinder von Migranten ein erhöhtes Risiko haben, selbst wenn sie in der neuen Umgebung geboren wurden (Bourque et al., 2011). Der Grund scheint vielmehr eine soziale Komponente zu sein, die in Zusammenhang mit einem „Minderheitenstatus“ steht. In Studien zeigte sich, dass das Risiko zunimmt, je geringer der Anteil von Migranten an der Gesamtbevölkerung war (Bresnahan et al., 2007). Verstärkter sozialer Stress, der durch vermehrte negative Erfahrungen wie Ausgrenzung, Anfeindung oder Rassismus (*social defeat*) hervorgerufen wird, könnte die Ursache sein (Selten et al., 2013). Studien wiesen nach, dass chronischer Stress tatsächlich in der Lage ist, Hirnprozesse physiologisch und anatomisch langfristig zu verändern (Lederbogen et al., 2011). Dass Menschen aus urbanen Räumen eine erhöhte Inzidenz aufweisen, könnte nach Meinung vieler Autoren ebenfalls auf verstärkten sozialen Stress zurückführbar sein (Lederbogen et al., 2013, Selten et al., 2007). Es gibt Hinweise, dass Faktoren wie ausgeprägte sozioökonomische Ungleichheit, hohe Bevölkerungsdichte (Kirkbride et al., 2014) und geringer sozialer nachbarschaftlicher Zusammenhalt das Schizophrenierisiko steigern (Zammit et al., 2010). Stadtbewohner sind im Vergleich zur ländlichen Bevölkerung einer Vielzahl risikosteigernder Gewohnheiten und Lebensbedingungen ausgesetzt, darunter erhöhter Cannabis-Konsum, höherer Luftschadstoffgehalt und Vitamin D Mangel (Kelly et al., 2010, Cougnard et al., 2007).

Prävalenz

Die Punktprävalenz - die Anzahl der zum Untersuchungszeitpunkt Erkrankten bezogen auf die Anzahl der untersuchten Personen – der Schizophrenie liegt im Median bei 4,6 pro 1.000 Einwohner oder 0,46 Prozent der Bevölkerung. Die Streubreite reicht von 1,9 Kranken pro 1.000 Einwohner bis zu 10 Kranken pro 1.000 Einwohner (McGrath et al., 2008). Die Lebenszeitprävalenz - das persönliche Risiko, im Laufe des Lebens an Schizophrenie zu erkranken - wird auf 0,72 Prozent beziffert (Saha et al., 2005, Perala et al., 2007).

Geographisch zeigen Menschen aus ökonomisch wohlhabenderen Nationen (1,3-fache Rate) und Menschen mit Herkunft aus nördlicher gelegenen Ländern eine höhere Prävalenzrate. Allerdings könnten diese Ergebnisse verzerrt sein durch fehlende Wirtschaftsdaten aus ärmeren Ländern und mangelnde medizinische Diagnosestellungen (McGrath et al., 2008).

Eine höhere Prävalenz zeigten Migranten (1,8-fache Rate), nicht jedoch Menschen aus urbanen Regionen und Männer (McGrath et al., 2008). Alle drei Gruppen zeigen jedoch eine höhere Inzidenzrate. Die höhere Inzidenzrate bei Migranten erklärt auch die höhere Prävalenzrate bei Migranten. Dementsprechend würde für Menschen aus städtischer Umgebung und für Männer eine entsprechend erhöhte Prävalenz erwartet, was in bisherigen Studien nicht der Fall ist. Für Menschen aus urbaner Umgebung gibt es aktuell keine plausible Erklärung für diese Diskrepanz. Für Männer beruht diese Differenz möglicherweise auf der erhöhten Krankheitssterblichkeit (Tandon et al., 2008).

Komorbidität und Mortalität

Personen mit Schizophrenie sind häufig von zusätzlichen psychischen und somatischen Erkrankungen betroffen (Komorbidität). Als körperliche Beschwerden treten Infektionserkrankungen (HIV, Hepatitis), Bluthochdruck, Adipositas, Diabetes, oder Osteoporose auf. Gehäuft finden sich bei Betroffenen auch weitere psychische Diagnosen, wie Suchterkrankungen, Depression und Zwangsstörungen. Insbesondere Suchterkrankungen, wie Drogen-, Alkohol- oder Nikotinabusus sind in 40 bis 80 Prozent der Fälle vorhanden (Gaebel und Wölwer, 2010). Auch ist die Suizidrate deutlich erhöht, etwa 5 Prozent der Betroffenen begeht Suizid (Palmer et al., 2005).

Die gesteigerte Komorbidität und die erhöhte Suizidrate bedingen eine 2,6-fach erhöhte Sterblichkeitsrate (Mortalität) bei Betroffenen (Saha et al., 2007, Saha et al., 2006). Männer haben dabei eine höhere Mortalitätsrate als Frauen, was auf eine schlechtere Therapie-Compliance (Test et al., 1990) und eine höhere Komorbiditätsrate zurück geführt wird (Tandon et al., 2008). Die Lebenserwartung ist im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung um etwa 20 Jahre verkürzt und scheint im Lauf der letzten Jahrzehnte keinen Anteil an der steigenden Lebenserwartung gehabt zu haben (Laursen et al., 2014).

Gesellschaftliche Auswirkungen

In Deutschland werden die wirtschaftlichen Kosten der Schizophrenie auf 10 bis 14 Milliarden Euro pro Jahr geschätzt (Frey, 2014). Dabei entstehen direkte Kosten durch Gesundheitsleistungen und indirekte Kosten durch Einnahmeausfälle, Arbeitslosigkeit und Frühverrentung. Laut Schätzungen liegen die jährlichen Gesundheitskosten in Deutschland bei zwei bis vier Prozent der Gesamtkosten für Gesundheitsleistungen (Gaebel und Wölwer, 2010). Nur 10 bis 20 Prozent sind nach längerem Krankheitsgeschehen noch auf dem primären Arbeitsmarkt beschäftigt (Marwaha et al., 2007). Die direkten Ausgaben liegen pro Patient und Jahr bei durchschnittlich 14.000 € bis 18.000 €, die indirekten Kosten dürften noch einmal so viel ausmachen (Konnopka et al., 2009).

Auch die sozialen Auswirkungen sind schwerwiegend. Nur etwa 30 Prozent der Betroffenen sind in der Lage eine langjährige Beziehung einzugehen (Falkai und Maier, 2006). Untersuchungen zeigen eine höhere Gewaltbereitschaft, schlechtere soziale Integration und eine häufigere Inhaftierung wegen Gewaltdelikten (Fazel et al., 2014).

1.1.3 Krankheitsbild

Die Klinik der Schizophrenie wird geprägt von floriden psychotischen Phasen, die mit Wahnvorstellungen und Halluzinationen einhergehen. Diese Episoden durchbrechen die häufig permanent vorhandenen, weniger markanten Symptome wie Antriebsarmut, Depression, oder Gedächtnis- und Konzentrationsstörungen.

Die Symptome werden ihrem Charakter nach in Positivsymptomatik, Negativsymptomatik und kognitive Symptome eingruppiert (Tabelle 1-1).

Tabelle 1-1: Übersicht über die gestörten Funktionsbereiche bei Schizophrenie

Funktionsbereich		Beispiele für Störungen
kognitive Symptome	Neurokognition	Konzentrationsstörungen Aufmerksamkeitsstörungen
	Soziale Kognition	Fehlende negative Emotionskontrolle (Ärger, Angst) mangelnde soziale Wahrnehmung
Positiv-Symptomatik	Inhaltliches Denken	Wahn (z.B. Verfolgungswahn, Beeinflussungswahn)
	Ich-Störung	Gedankenlautwerden, Gedankeneingebung, Gedankenentzug, Gedankenausbreitung
	Wahrnehmung	Halluzinationen (insbesondere kommentierende oder dialogische Stimmen, die über den Patienten sprechen)
	Formales Denken	Gedankenabreißen oder Einschieben in den Gedankenfluss (führt oft zu Zerfahrenheit, Danebenreden oder Neologismen) Konkretismus, Assoziationslockerung
	Antrieb	Apathie, sozialer Rückzug
Negativ-Symptomatik	Psychomotorik	Sprachverarmung
	Affekt	Anhedonie (Unfähigkeit, Freude zu empfinden) verflachter oder inadäquater Affekt

Tabelle nach Gaebel 2010

Die Ausprägung der Symptome und deren jeweilige Auswirkungen hängen bis zu einem gewissen Grad von der Persönlichkeit des Betroffenen ab. Die Symptome sind insgesamt sehr variabel, viele Patienten bleiben jedoch oft über lange Zeiträume ihrem jeweiligen Symptom-Muster treu (Gaebel und Wölwer, 2010). Ein geschlechtsspezifischer Einfluss auf Art und Ausprägung der Symptomatik ist nicht bekannt (Ochoa et al., 2012). Die interindividuelle Variabilität und die klinische Bandbreite der Symptome lässt sich möglicherweise dadurch erklären, dass Schizophrenie keine einzelne Krankheit, sondern ein heterogenes Syndrom mit überlappenden Symptomkonstellationen und Ursachen darstellt (Feigenson et al., 2014, Fanous und Kendler, 2008). Dazu passt, dass sich Schizophrenie nicht klar von anderen psychischen Erkrankungen wie der affektiven oder schizoaffectiven Störung abgrenzen lässt, sondern sich mit diesen überschneidet (Haller et al., 2014). Es zeigen sich Überlappungen unter anderem bei der Neurobiologie, der Genetik und dem medikamentösem Ansprechverhalten (Keshavan et al., 2013).

Positivsymptomatik

Unter Positivsymptomatik wird eine im Vergleich zur normalen Funktion „übersteigerte“ Funktion psychischer Merkmale des Menschen verstanden. Diese Symptome sind klinisch markant und treten im Krankheitsverlauf episodisch auf. Darunter werden Störungen des inhaltlichen Denkens, der Wahrnehmung, der eigenen Integrität („Ich“) und des formalen Denkens verstanden. Es werden Grundfunktionen beeinträchtigt, die dem Menschen ein Gefühl von Individualität, Einzigartigkeit und Entscheidungsfreiheit geben (Dilling, 2011). Häufig zeigt sich die inhaltliche Denkstörung in Form einer falschen Überzeugung von der Realität, im Wahn, an der der Patient trotz objektiv nachprüfbarer widersprechender Tatsachen festhält. Wahninhalte sind oft natürliche oder übernatürliche Kräfte, die den Patienten in seiner Lebensführung behindern (z.B. Verfolgungs- und Beeinträchtigungswahn). Zudem nehmen Betroffene oft real nicht existente Sinneseindrücke wahr, die Halluzinationen, die nicht als unreal erkannt werden. Sie sind besonders häufig akustischer Natur (z.B. „Stimmenhören“). Ist die klare Grenze zwischen Ich und Umwelt verschwommen, wird von einer Ich-Störung gesprochen. Zum Beispiel glauben Betroffene, dass ihre innersten Gedanken, Gefühle und Handlungen anderen bekannt sind (Gedankenausbreitung, Gedankenlautwerden), beziehungsweise diese darauf Einfluss nehmen (Gedankenentzug, Gedankeneingebung). Auch kann die eigene Person (Depersonalisation) oder die Umwelt als Ganzes (Derealisation) plötzlich unvertraut und fremd erscheinen. Bei manchen finden sich sprachliche Auffälligkeiten wie wechselnde Sprechgeschwindigkeit und ungeordnete Gedankengänge, die als formale Hinweise auf gestörte Denkprozesse gewertet werden (Gaebel und Wölwer, 2010).

Negativsymptomatik

Die Negativsymptomatik stellt sich als eine im Vergleich zum Normalen „verminderte“ Funktion psychischer Merkmale dar, die bis hin zum Funktionsverlust reichen kann (Gaebel und Wölwer, 2010). Während sich Positivsymptome allgemein im Verlauf der Zeit zu reduzieren und zu stabilisieren scheinen, zeigen Negativsymptome eine geringere Veränderung im Krankheitsverlauf (Austin et al., 2015). Dennoch zeigten sich in einer neueren Meta-Analyse die Negativsymptome aller untersuchten Kollektive unter Therapie

signifikant rückläufig, sodass diese möglicherweise besser auf Medikamente ansprechen, als bislang gedacht (Savill et al., 2014).

In der Vergangenheit wurden der Negativsymptomatik die Domänen Affektverflachung, Anhedonie, Antriebsarmut, sozialer Rückzug und Sprachverarmung zugerechnet (Andreasen, 1982). Die Psychomotorik ist reduziert, die Betroffenen wirken in Mimik und Gestik wenig lebhaft bis starr (Gaebel und Wölwer, 2010). Sprachverarmung äußert sich durch ein zögerliches und ausgesprochen karges Antworten auf Fragen, was eine Gesprächsführung erschwert. Affektive Beeinträchtigungen bzw. Störung der Gefühlswelt sind häufig. Die Affektverflachung ist eine Gefühlsarmut, die sich durch verminderte emotionale Schwingungsfähigkeit ausdrückt und mit Teilnahmslosigkeit einhergeht. Demgegenüber meint Anhedonie die Unfähigkeit, Freude zu empfinden. Häufig mit Negativsymptomatik sind Depressionen assoziiert. Bei der Untersuchung eines möglichen gemeinsamen zugrundeliegenden Prozesses zeigte sich zwischen den einzelnen Domänen ein moderater Zusammenhang (Foussias und Remington, 2010). Eine Strukturanalyse der Negativsymptomatik benennt zwei Hauptsymptomkomplexe: (1) verminderte Ausdrucksfähigkeit mit Sprachverarmung und Affektverflachung und (2) Amotivation, die sich durch Antriebsminderung, Apathie und sozialen Rückzug ausdrückt (Strauss et al., 2013).

Kognitive Störungen

Kognitive Störungen sind heute als eigene (Kern-)Domäne der Schizophrenie anerkannt (Hasan, 2013). Kognitive Störungen sind im gesamten Krankheitsverlauf in relativ stabiler Ausprägung vorhanden und sind zum Teil bereits Jahre vor Krankheitsausbruch nachweisbar (Kahn und Keefe, 2013, Reichenberg et al., 2010). Unter Neurokognition werden zerebrale Prozesse verstanden, die Informationen aus Sinnesorganen aufnehmen, auswerten und in Handlungen und Äußerungen umgestalten. Bei Schizophrenie lassen sich moderate Defizite in den neurokognitiven Bereichen Aufmerksamkeit, Kurzzeitgedächtnis, Sprachvermögen und exekutive Funktionen nachweisen sowie stärker ausgeprägte Defizite in den Bereichen verbales Lernen und Gedächtnis (Bowie und Harvey, 2005).

Neben Störungen dieser basalen Fertigkeiten sind auch übergeordnete kognitive Bereiche gestört, die unter dem Konzept der *sozialen Kognition* zusammengefasst werden. Darunter wird die Wahrnehmung, Verarbeitung und Verwendung von sozialen Informationen verstanden. Die soziale Kognition umfasst vier Prozesse: (1) Verarbeitung von Emotionen (Erhalten und Einsetzen emotionaler Informationen), (2) soziale Wahrnehmung (Interpretation von sozialen Hinweisen), (3) Empathie und Einfühlungsvermögen (die Fähigkeit sich in Gedanken und Gefühle von Mitmenschen hinein zu versetzen) und (4) Attributionsstil (Einordnen von positiven und negativen sozialen Ereignissen im Leben). Patienten mit Schizophrenie haben größte Schwierigkeiten, mit negativen Emotionen wie Ärger oder Angst umzugehen und können soziale Hinweise und Zusammenhänge nur unzureichend erkennen (Pinkham, 2014).

Negative Symptome und Kognition - sowohl Neurokognition als auch soziale Kognition - stehen allem Anschein nach miteinander in Zusammenhang, sind dabei jedoch als eigenständige Vorgänge anzusehen (Foussias und Remington, 2010). Gleiches gilt für Neurokognition und soziale Kognition, die sich in Bereichen des Gedächtnis und der Aufmerksamkeit zum Teil deutlich überschneiden, sonst aber ebenfalls weitgehend unabhängig voneinander sind (Pinkham, 2014). Eine Assoziation zwischen positiven Symptomen und Kognition ist deutlich schwächer vorhanden (Villalta-Gil et al., 2006).

1.1.4 Klassifikation

Schon seit der Psychiater Emil Kraepelin das Krankheitsbild Ende des 19ten Jahrhunderts prägte - damals noch als *Dementia Praecox* (vorzeitige Demenz) bezeichnet - wurde die Schizophrenie anhand klinischer Symptome diagnostiziert und eingeordnet. Daran hat sich - in Ermangelung eindeutiger biologischer Marker – bis heute nichts geändert (Stefansson et al., 2009). Heute sind im deutschen Sprachraum zwei Klassifikationen gebräuchlich, ICD-10 und DSM-IV:

(1) Die *Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme* in der aktuell 10. Ausgabe von 2012 (ICD-10) wird von der Weltgesundheitsorganisation herausgegeben. Die vom Deutschen Institut für Medizinische Dokumentation und Information adaptierte Version 2014

ist die verbindliche ärztliche Klassifikation für den klinischen Alltag und kommt hauptsächlich in der klinischen Praxis zum Einsatz.

(2) Das *Diagnostic and Statistical Manual of mental Disorders*, herausgegeben von der amerikanischen psychiatrischen Gesellschaft, ist in revidierter 4. Auflage (DSM-IV) auf Deutsch verfügbar. Die neuere 5. Auflage vom Mai 2013 (DSM-5) ist aktuell nur auf Englisch verfügbar. Das DSM-IV enthält zum Teil strengere Diagnosekriterien als die ICD-10 und ist daher für die Forschung interessant.

Diagnosestellung

Die Diagnosestellung erfolgt nach den DSM-IV Kriterien bei typischer Klinik und Ausschluss verwandter psychischer Störungen (z.B. bipolare Störung) bzw. Ausschluss anderer möglicher körperlicher Ursachen wie Drogeneinfluss, Delirium und Traumata (Ross et al., 2006). Voraussetzung sind mindestens sechs Monate mit bestehenden Anzeichen der Störung, sowie zwei oder mehr der folgenden Kernsymptome über einem Zeitraum von mindestens vier Wochen:

- Wahn
- Halluzinationen
- Desorganisierte Sprache
- Desorganisiertes Verhalten oder Katatonie
- Negativsymptome (Affektverflachung, Alogie, Willensschwäche)

Bei bizarrem Wahn oder akustischen Halluzinationen mit einer kommentierenden oder mindestens zwei sich unterhaltenden Stimmen reicht eines der Symptome.

Klassifikation

In der Vergangenheit war die Einteilung der Krankheit in Subtypen weithin gebräuchlich. Nachdem deren Verwendung im Lauf der Zeit abnahm, wurde ihre Validität in jüngerer Zeit gänzlich in Frage gestellt (Braff et al., 2013). Im DSM-5 wurde die Einteilung wegen Unbeständigkeit und fehlender klinischer Relevanz nicht mehr erfasst (Paulzen, 2014). Es wird zwischen paranoiden, hebephrenen, katatonen sowie undifferenzierten Typen unterschieden.

Im weiteren Krankheitsverlauf kann die postschizophrene Depression, das schizophrene Residuum und die Schizophrenia simplex erhoben werden (Tabelle 3). Das DSM-IV gleicht weitgehend der Einteilung des ICD-10, ohne die

postschizophrene Depression oder die Schizophrenia simplex zu berücksichtigen (Tabelle 1-2).

Tabelle 1-2: Vergleichende Klassifikation ICD-10 / DSM-IV

ICD-10	DSM-IV
F20.0 Paranoide Schizophrenie	295.30 paranoider Typus
F20.1 Hebephrene Schizophrenie	295.10 desorganisierter Typus
F20.2 Katatone Schizophrenie	295.20 katatoner Typus
F20.3 Undifferenzierte Schizophrenie	295.90 undifferenzierter Typus
F20.4 Postschizophrene Depression	
F20.5 Schizophrenes Residuum	295.60 residualer Typus
F20.6 Schizophrenia simplex	

1.1.5 Verlauf

Die Betroffenen erleben meist eine fünf bis sechs Jahre dauernde Vorläuferphase (Prodromalphase), bevor es zur ersten psychotischen Episode (akute Phase, Psychose) kommt (Gaebel und Wölwer, 2010). Danach tritt Besserung ein und die Symptome bilden sich vollständig (Remission) oder teilweise zurück (Residuum) oder bleiben dauerhaft bestehen (Chronifizierung). Meist treten im Abstand von mehreren Monaten bis Jahren neue psychotische Episoden auf. Einen schematischen Verlauf gibt Abbildung 1-1 wieder.

Die bei Ausbruch der ersten akuten Phase (Erstmanifestation) markante Positivsymptomatik dauert etwa vier bis sechs Wochen an. Bei Männern liegt das durchschnittliche Erstmanifestationsalter zwischen 18 und 25 Jahren. Frauen

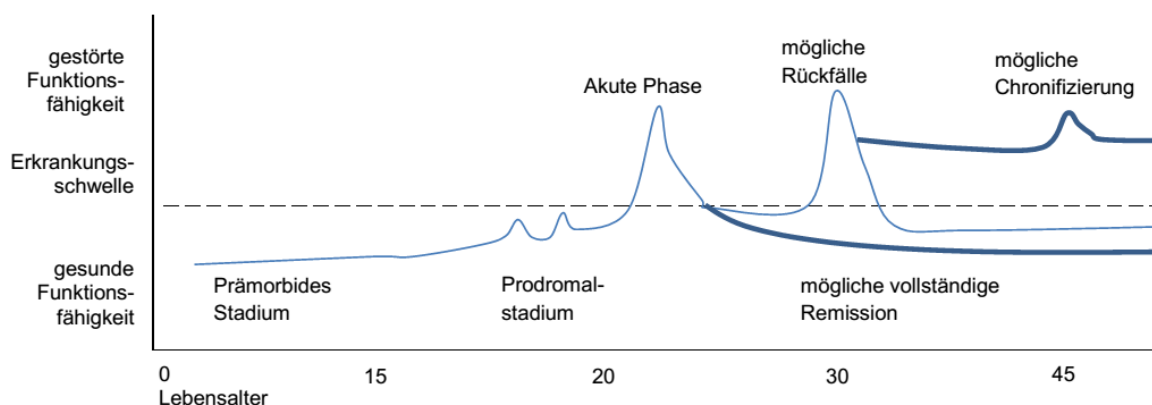


Abbildung 1-1: Schematischer Krankheitsverlauf der Schizophrenie (nach Gaebel 2010).

erkranken im Mittel fünf Jahre später als Männer und weisen einen zweiten Häufigkeitsgipfel in der fünften Lebensdekade auf (Gaebel und Wölwer, 2010). Generell kann Schizophrenie in jedem Lebensalter - vom Kindes- bis zum Seniorenalter – ausbrechen (Ross et al., 2006). Dabei gilt: je früher der Krankheitsbeginn, desto schwerer der Krankheitsverlauf (Kyriakopoulos und Frangou, 2007).

Etwa 75 Prozent der Erkrankten erleben vor der Erstmanifestation eine Prodromalphase, die sich durch eine zunehmende Abweichung des Erlebens und der Gedankenwelt vom Normalen kennzeichnet. Die Betroffenen erleben unspezifische Symptome, sogenannte Prodromi, die eigenartige bzw. wahnhafte Denkinhalte, paranoide Ideen und kognitive bzw. affektive Veränderungen beinhalten. Damit gehen häufig Depression, sozialer Rückzug und Stagnation der sozialen Entwicklung einher (Klosterkotter et al., 2008). In der Regel werden die Krankheitszeichen in der Prodromalphase verkannt bzw. umgedeutet (z.B. Pubertätsprobleme) oder lassen sich nicht eindeutig der Schizophrenie zuordnen, weshalb die Prodromalphase meist nur rückblickend als solche identifiziert wird (Parnas et al., 2011). Nach vier bis fünf Jahren kommt es über ca. 15 Monate zunehmend zu psychotischen Symptomen, die im akuten Schub gipfeln (Häfner und Maurer, 2006).

Es gibt vermehrt Hinweise darauf, dass die Hirnentwicklung bereits vom frühen Kindesalter an gestört ist (Prämorbides Stadium). In einer dänischen Kohortenstudie zeigten sich bereits im Säuglingsalter Entwicklungsverzögerungen bei späteren Betroffenen (Sørensen et al., 2010). Teils deutliche Defizite ließen sich für Arbeitsgedächtnis, Aufmerksamkeit und Verarbeitungsgeschwindigkeit (Reichenberg et al., 2010), Intelligenz (Woodberry et al., 2008, Dickson et al., 2012) und motorische Entwicklung (Dickson et al., 2012) nachweisen. Zudem könnten erste Prodromi bereits in diesem Stadium häufiger auftreten als angenommen (Woodberry et al., 2014).

Nach dem Abklingen des akuten Schubs kann die Krankheit in drei möglichen Verläufen mit leichter, mittelschwerer, oder schwerer Krankheitsaktivität fortschreiten (Jobe und Harrow, 2005). Unter konsequenter Behandlung gelingt bei einem Drittel der Fälle eine Vollremission (Gross und Huber, 2008). Diese stellt den günstigsten Schweregrad dar, bei der die klinische Symptomatik über mindestens sechs Monate gar nicht oder höchstens schwach vorhanden sein darf

und diese das Verhalten nur unwesentlich beeinflusst (Andreasen et al., 2005). Die Remission ist dabei ein notwendiger Schritt zur Erholungs- und Genesungsphase, in die der Patient bei günstiger Krankheitsentwicklung ohne Rückfälle eintritt und bei der von einer Heilung gesprochen werden kann (Gaebel und Wölwer, 2010). Ein weiteres Drittel der Patienten zeigt eine Teilremission mit Verbleib einer leichten bis mittelschweren Restsymptomatik, die in regelmäßigen Abständen erneut von psychotischen Episoden durchbrochen wird (an der Heiden et al., 2005). Die Restsymptomatik beinhaltet dabei sowohl negative Symptome als auch kognitive Defizite. Das letzte Drittel zeigt eine schwere Verlaufsform mit ausgeprägter Klinik und chronisch persistierenden psychotischen Symptomen, die schizophrene Defektsymptomatik. Die Verlaufsformen können ineinander übergehen. Selbst schwere chronische Verlaufsformen mit Psychosen sind kein „Endzustand“, sondern können sich noch nach Jahrzehnten bessern. Andererseits kann es auch nach jahrelangem Krankheitsstillstand noch zur Verschlechterung kommen (Gross und Huber, 2008).

1.1.6 Prognose und Therapie

Prognose

Der Langzeitverlauf ist sehr heterogen und beinhaltet sowohl Vollremissionen als auch schwere chronische Zustände. Im Vergleich zu verwandten psychischen Erkrankungen (z.B. schizoaffektive oder affektive Störung) ist die Prognose deutlich ungünstiger (Lang et al., 2013).

Viele Patienten in Remission sind dennoch nicht in der Lage, einen geregelten Alltag (geregeltes Einkommen, stabile Beziehungen, selbstständiger Wohnungsunterhalt) aufrecht zu erhalten (Insel, 2010). Eine Metaanalyse zeigt, dass nur ein kleiner Teil – weniger als 14 Prozent der Erkrankten – als vollständig geheilt gelten kann. Die Heilungsrate hat sich dabei trotz des medizinischen Fortschritts der letzten Jahrzehnte nicht gebessert (Jääskeläinen et al., 2013).

Einige Faktoren dienen zur Prognoseabschätzung. So haben Frauen ein besseres prognostisches Outcome, ein besseres soziales Funktionsniveau und ein besseres Therapieansprechen als Männer (Ochoa et al., 2012). Den am stärksten belegten Zusammenhang mit dem Outcome zeigen negative Symptome und Kognition. Untersuchungen lassen vermuten, dass kognitive Symptome den

engsten – möglicherweise kausalen - Zusammenhang mit dem Verlauf der Erkrankung und dem Erhalt der Alltagskompetenz zeigen (Hasan, 2013, Hoe et al., 2012). Sie stellen dabei den wesentlichen Prädiktor für ein niedriges soziales und berufliches Funktionsniveau und tragen entscheidend zur Chronifizierung der Schizophrenie bei (Kahn und Keefe, 2013). Eine ausgeprägte Negativsymptomatik geht mit negativer Prognose einher (Galderisi et al., 2013). Möglicherweise vermitteln negative Symptome den Einfluss von Neurokognition und sozialer Kognition (Lin et al., 2013).

Eine geringe Krankheitseinsicht scheint negativen Einfluss auf den Langzeitverlauf zu haben. Die kranken Patienten nehmen einerseits nicht wahr, dass andere Leute glauben sie hätten ein Problem und andererseits lehnen sie die Vermutung ab, wenn sie es doch wahrnehmen (Koren et al., 2013). Das Maß an Einsehen verschlechtert sich insbesondere mit zunehmender psychotischer Symptomatik (Zhou et al., 2014) bzw. der Krankheitsschwere und mit zunehmender kognitiver Beeinträchtigung (Trevisi et al., 2012). Das Maß an Einsicht ist dabei ein wichtiger Faktor für Therapietreue (z.B. Medikamenten Compliance) und könnte darüber das Outcome beeinflussen (Misdrahi et al., 2012).

Therapie

Therapieoptionen liefern einen wichtigen Beitrag zur Prognoseabschätzung. Dass die Prognose in den vergangenen Jahrzehnten unverändert geblieben ist, liegt auch am nach wie vor unklaren Nutzen aktueller therapeutischer Maßnahmen (Lang et al., 2013). Medikamente, die den Dopamin-D₂-Rezeptor blockieren, sogenannte D₂-Antagonisten, sind die einzigen effektiven Medikamente, die bislang zur Verfügung stehen (Keshavan et al., 2011). Diese Psychopharmaka helfen hauptsächlich gegen psychotische Symptome, jedoch kaum gegen kognitive Symptome (Insel, 2010). Einzelne Antipsychotika könnten dennoch eine positive kognitive Wirkung zeigen, wie eine Meta-Analyse des Neuroleptikums Risperidon zeigt (Houthoofd et al., 2008). Dabei behindert das nach wie vor unzureichende Verständnis der grundlegenden Krankheitsprozesse (Kahn und Keefe, 2013) die Verbesserung der wirksamen Psychopharmaka (Reichenberg et al., 2010).

Erschwert wird die Therapie durch eine mangelhafte Medikamenten-Compliance vieler Patienten. In zwei Studien nahmen 50 Prozent der Befragten die Medikation

gegen ärztliche Anweisung nur in unzureichender Dosierung ein (Goff et al., 2010, Lacro et al., 2002).

1.1.7 Pathophysiologie

Bereits in der Mitte des 20. Jahrhunderts wurde eine Störung des Dopamin-Haushalts mit Schizophrenie in Verbindung gebracht. Die sich aus dieser Beobachtung entwickelte Dopamin-Hypothese galt lange Zeit als Kernelement in der Ätiologie der Schizophrenie. Heute wird zunehmend erkannt, dass die Dopamin-Hypothese nur einen Teil der Pathophysiologie plausibel erklärt (Lau et al., 2013).

Neuere Erkenntnisse legen den Schwerpunkt eher auf die Unterfunktion des Glutamat-Haushaltes, unter Berücksichtigung der Störung des Dopamin-Haushaltes (Laruelle, 2014). Unklar ist bislang das Zusammenspiel der beiden nachweislich gestörten Haushalte (Rapoport et al., 2012). Heute werden die bei Erkrankten häufig beobachteten Störungen der Neurotransmitterspiegel zunehmend als ein Ausdruck der Erkrankung und nicht als Ursache derselben gesehen (Zipursky et al., 2013, Bora, 2015). Eine Störung anderer Haushalte von Neurotransmittern, darunter Serotonin, Acetylcholin, Opiate und Gamma-Aminobuttersäure (GABA) wurde diskutiert (Laruelle, 2014).

1.1.7.1 Dopamin-Hypothese

Die Dopamin-Hypothese geht von einem Zusammenhang zwischen der Störung des Dopamin-Haushalts und Schizophrenie aus. Dopamin ist ein biogenes Amin aus der Gruppe der Katecholamine und dient als chemische Schnittstelle bei der Signalweiterleitung im Gehirn (Neurotransmitter). Die Strukturformel von Dopamin wird in Abbildung 1-2 gezeigt. Dopamin ist an einer Vielzahl physiologischer Prozesse wie Gedächtnis, Emotion, Bewegungskontrolle, Nahrungsaufnahme und

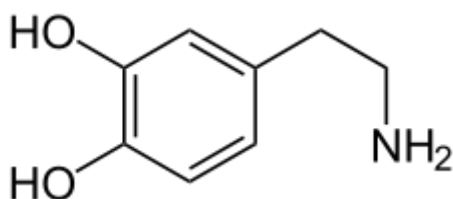


Abbildung 1-2: Strukturformel von Dopamin

der Regulierung des Zentralnervensystems beteiligt (Missale et al., 1998). Die hauptsächliche Wirkung wird im Bereich der Antriebssteigerung und der Motivation vermutet (Salamone und Correa, 2012).

Dopamin enthaltende Neurone sind nicht gleichmäßig in allen Hirnarealen verteilt, sondern verlaufen in vier weitgehend separaten Bahnen, von denen dreien eine Rolle bei Schizophrenie zugesprochen werden (Abbildung 1-3).

(1) Die mesostriatale Bahn nimmt ihren Ursprung in der Substantia Nigra im Mittelhirn und projiziert vor allem zu den Basalganglien (Striatum), die eine wichtige Rolle bei der Bewegungssteuerung spielen.

(2) Die mesolimbische Bahn verläuft von der Area tegmentalis ventralis (VTA) zum Hippokampus und anderen Bestandteilen des limbischen Systems. Das System trägt sehr wahrscheinlich zur Positivsymptomatik bei.

(3) Die mesokortikale Bahn verläuft von der VTA zum präfrontalen Kortex (*prefrontal cortex*, PFC). Das Funktionieren dieser Bahn hat vermutlich eine bedeutende Rolle bei den kognitiven Störungen.

Die Dopamin-Hypothese war lange Zeit der führende Ansatz zur Erklärung der Krankheit, weshalb Dopamin heute der bestuntersuchte Neurotransmitter ist (Hasan et al., 2014). Zunächst wurde von einer Dopamin-Überfunktion im Gehirn ausgegangen. Die Annahme beruhte auf der Basis zweier Beobachtungen: (1) es gibt eine Korrelation der Wirksamkeit antipsychotischer Medikamente mit der

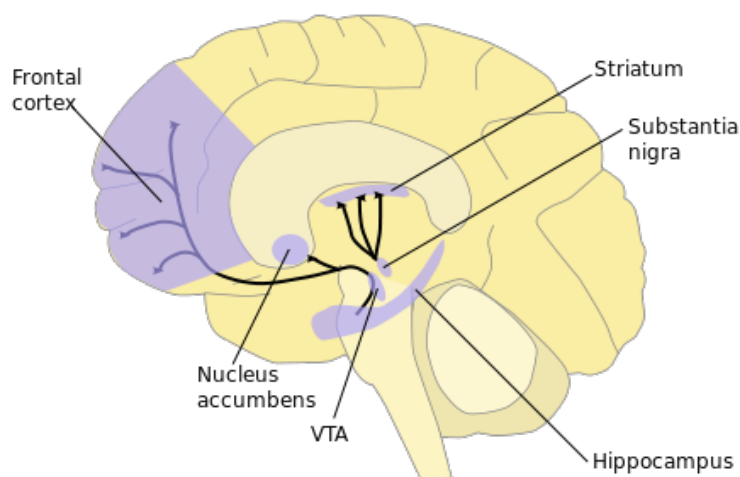


Abbildung 1-3: Relevante dopaminerge Hirnbahnen Die mesostriatale Bahn verläuft von der Substantia nigra zum Striatum. Die mesokortikale Bahn verläuft von der Area tegmentalis ventralis (VTA) zum Frontalhirn (frontal cortex) Die mesolimbische Bahn verläuft von der VTA zum Hippokampus (nach NIDA 2012).

Stärke der Blockade des Dopamin-Rezeptors Typ 2, dem D₂-Rezeptor, und (2) es lassen sich durch Verabreichung Dopamin freisetzender Substanzen (z.B. Amphetamin) Psychosen auslösen (Flint und Munafo, 2014). Früh zeigte sich ein Widerspruch dieser reinen Dopamin-Überfunktion mit einer Reihe anderer Studienergebnisse. So zeigte das Neuroleptikum Clozapin bei Patienten eine deutlich bessere Wirkung im Vergleich zu anderen Neuroleptika, obwohl es den D₂-Rezeptor vergleichsweise schwach blockiert (Meltzer, 1989). Auch konnten im Blut von Patienten keine erhöhten Werte von Dopamin-Abbauprodukten festgestellt werden, wie eigentlich bei einer Überfunktion erwartet (Lau et al., 2013).

In der Summe führte das zur ersten Revision der Hypothese durch Davis et al. (1991). In der Neufassung wurde ein Dopamin-Ungleichgewicht postuliert mit einer Dopamin-Überaktivität in der mesostriatalen Bahn und einer Dopamin-Unteraktivität der mesokortikalen Bahn. Durch die Überaktivität kommt es zu einer Überstimulation von D₂-Rezeptoren im Striatum und zur Ausbildung der Positivsymptomatik. Die Unteraktivität sollte durch fehlende Stimulation präfrontaler D₁-Rezeptoren im dorsolateralen präfrontalen Cortex (DLPFC) negative und kognitive Defizite hervorrufen (Davis et al., 1991). Die angepasste Hypothese wird durch die direkte Darstellung des Dopamin-Hirnstoffwechsels am lebenden Menschen mittels Positronen-Emissions-tomographie (PET) und Einzelphotonen-Emissionscomputertomographie (SPECT) gestützt (Howes et al., 2009). So zeigten PET-Bilder von Patienten, die eine psychotische Episode erlebten, eine erhöhte Dopamin-Freisetzung an striatalen Synapsen (Lau et al., 2013) und eine vermehrte Zahl von D₂-Rezeptoren im aktivierten Zustand (Laruelle, 2014). Für eine verminderte D₁-Rezeptor Aktivität im DLPFC gibt es bislang nur indirekte Hinweise. In einer Studie reicherte sich radioaktiv markiertes Dopamin verstärkt im DLPFC von Patienten an, was auf eine Erhöhung der D₁-Rezeptoren hinweist. Die Erhöhung wird als Anpassung des Gehirns an eine Dopaminunteraktivität im Sinne einer kompensatorischen Upregulation der Rezeptoren interpretiert (Abi-Dargham et al., 2012).

Untersuchungen zeigen einen Zusammenhang zwischen bekannten risikosteigernden Umwelteinflüssen und einer Dopamin-D₂-Überempfindlichkeit (Lau et al., 2013). Allen Faktoren gemein ist eine Sensibilisierung auf Dopamin mit einer erhöhten Ausschüttung von Dopamin auf bestimmte Reize. So erhöht eine soziale

Isolation und eine unterlegene soziale Position die Zahl an D₂-Rezeptoren im Striatum. In Isolation aufgezogene Ratten zeigten nicht nur Schizophrenie ähnelnde Symptome (z.B. Hyperaktivität auf neue Reize), sondern auch eine erhöhte Zahl an Dopamin-Rezeptoren im Zustand hoher funktioneller Aktivität (Berton et al., 2006, King et al., 2009). Die Inhalation von Delta-9-Tetrahydrocannabinol, dem aktiven Wirkstoff des Cannabis, zeigte in PET-Untersuchungen eine erhöhte Ausschüttung von Dopamin im Striatum (Bossong et al., 2009). Die auf eine pränatale Infektion (z.B. Herpes Virus) folgende maternale Immunreaktion ändert möglicherweise die normale Entwicklung der mesokortikalen und mesolimbischen Bahnen (Meyer und Feldon, 2009).

Diese Beobachtungen lassen vermuten, dass die Dopamin-Überempfindlichkeit eine gemeinsame Endstrecke vieler genetischer und nicht-genetischer Risikofaktoren ist. Möglicherweise handelt es sich sogar um einen notwendigen Schritt auf dem Weg zwischen der initialen Ursache und einer klinischen Symptomatik mit Wahn und Halluzinationen (Seeman und Seeman, 2014).

1.1.7.2 Glutamat-Hypothese

Glutamat ist der häufigste exzitatorische Neurotransmitter im Gehirn. Er reguliert über Glutamat-Rezeptoren – unter anderem N-Methyl-D-Aspartat (NMDA) - ein breites Spektrum an zentralnervösen Prozessen (Traynelis et al., 2010). Die Glutamat-Hypothese vermutet die Ursache von Teilaspekten der Schizophrenie - insbesondere der kognitiven Störung - in einer verringerten Aktivität des NMDA-Rezeptors (Insel, 2010).

Die Hypothese wird heute durch eine Vielzahl neurowissenschaftlicher Befunde gestützt und gilt als gut etabliert (Hasan et al., 2014). Erste Anhalte lieferte die Beobachtung, dass die Gabe von NMDA-Antagonisten wie Phencyclidin (PCP, Angel Dust) oder Ketamin bei Gesunden eine mit Schizophrenie vergleichbare Symptomatik hervorruft (Javitt, 2007). Dabei lassen sich sowohl positive, negative als auch kognitive Symptome auslösen. Diese Beobachtung ließ sich unter anderem an Tiermodellen reproduzieren (Moghaddam und Jackson, 2003). Aufgrund dieser Erkenntnis wurde initial von einer Unterfunktion der NMDA-Rezeptoren ausgegangen. Nach heutigem Verständnis steht eher eine dysfunktionale glutamaterge Transmission im Mittelpunkt, die mit einer regionalen Zunahme des Glutamats und gegenregulatorisch verminderter Aktivität der

NMDA-Rezeptoren einhergeht (Paz et al., 2008). Unterstützende Befunde kommen aus der Genetik, postmortem Untersuchungen und bildgebenden Verfahren. Verschiedene Gene des Glutamat-Rezeptors (GRIA1, GRIA4, GRIN2B und GRM5) haben sich in genomweiten Assoziationsstudien als mögliche Top-Kandidaten bei der Entstehung von Schizophrenie gezeigt (Ayalew et al., 2012). Ergänzend dazu weisen genetische Untersuchungen auf eine defizitäre Neurotransmission bei NMDA-Rezeptoren hin (Kirov et al., 2012).

Mit der Störung der glutamatergen Funktion geht gleichzeitig auch eine Störung in der Funktion des inhibitorischen Neurotransmitters γ -Aminobuttersäure (GABA) einher, der im Gehirn den Gegenspieler von Glutamat darstellt (Powell et al., 2012, Coyle, 2006). Als Grund wird eine Störung der wechselseitigen Kontrolle von GABAergen und glutamatergen Neurone, insbesondere in der Region des dorsolateralen PFC angenommen (Lewis, 2009).

In die Entwicklung von Therapeutika auf Basis der Glutamat-Hypothese als Alternative oder Ergänzung zu der bestehenden Therapie werden große Hoffnungen gesetzt. Nicht zuletzt, da die Wirkung der zweiten Generation von Neuroleptika in Beziehung zu ihrem Einfluss auf die glutamaterge Neurotransmission steht (Gupta und Kulhara, 2010). Nach bislang enttäuschenden Ergebnissen von ersten pharmakologischen Testsubstanzen muss die weitere Entwicklung in diesem Bereich abgewartet werden (Hasan et al., 2014).

1.1.7.3 Interaktion von Dopamin und Glutamat

Die dopaminerge und glutamaterge Transmission sind allem Anschein nach eng miteinander verflochten und scheinen sich gegenseitig zu verstärken (Laruelle, 2014).

Wirkung von Dopamin auf Glutamat

Weil Glutamat und Dopamin beide synaptische Verbindungen an den Nervenzellästen von striatalen Neuronen besitzen, eignet sich dieser Ort besonders für eine gemeinsame Interaktion (Freund et al., 1984). Dort wirkt eine Aktivierung von D₂-Rezeptoren auf die Neurotransmission von Glutamat dämpfend, während eine Aktivierung von D₁-Rezeptoren im Striatum die NMDA-

vermittelte Neurotransmission von Glutamat aktiviert (Levine et al., 1996, Cepeda und Levine, 1998).

Wirkung von Glutamat auf Dopamin

In bildgebenden Verfahren zeigte die Gabe von NMDA-Agonisten keinen signifikanten Effekt auf die Freisetzung von Dopamin im Striatum. Wird im Tierversuch anschließend der Dopamin-Agonist Amphetamin verabreicht, so erhöht sich die Freisetzung von Dopamin deutlich (Kegeles et al., 2000). Diese Ergebnisse unterstützen die Hypothese, dass Schäden in glutamatergen Schaltbahnen, die dopaminerge Neurone kontrollieren, für die unnormale Erhöhung der Freisetzung von Dopamin verantwortlich sind (Laruelle, 2014).

Im PFC finden sich D₁-Rezeptoren auf exzitatorischen Pyramidenzellen und auf inhibitorischen GABAergen Interneuronen (Smiley et al., 1994). Die Pyramidenzellen werden durch direkte Transmission von auf den Zellen sitzenden D₁-Rezeptoren aktiviert und über D₁-Rezeptoren auf dazwischen geschalteten GABAergen Interneuronen gehemmt. Dabei hemmen die D₁-Rezeptoren auf Interneuronen Pyramidenzellen nicht per se, sondern verstärken das zuvor vorhandene Aktivitätsniveau des Interneurons. In der Summe wirken D₁-Rezeptoren „Signal-erhaltend“, indem durch D₁ gezielt aktive Neurone verstärkt werden und gleichzeitig durch GABAerge Neurone die Grundaktivität der restlichen Neurone gesenkt wird. Dadurch könnte D₁ das Signal-Rausch-Verhältnis im PFC erhöhen (Seamans et al., 2001, Gorelova et al., 2002). Möglicherweise erklärt die D₁-Rezeptor-Hypoaktivität auf diese Art einen Teil der kognitiven Defizite bei Patienten (Laruelle, 2014).

1.1.8 Ätiologie

Im Hinblick auf die Ätiologie deuten alle Forschungsergebnisse auf ein Zusammenspiel von Erbanlagen und Umweltfaktoren als Ursache hin (Giedd et al., 2008). Der Anteil der Genetik überwiegt dabei deutlich.

Die Genetik der Schizophrenie ist komplex. Schizophrenie wird nicht durch ein einzelnes Gen verursacht, sondern ist eine polygene Erkrankung, die durch eine Vielzahl interagierender Gene verursacht wird (Allen et al., 2008). Zusätzlich ist nicht ausgeschlossen, dass dem Wesen der Schizophrenie kein einheitliches,

sondern ein heterogenes Muster zugrunde liegt. In diesem Fall müsste Schizophrenie als zusammengesetztes Puzzle aus vielen genetisch separaten Erkrankungen mit ähnlicher Klinik betrachtet werden (Attia et al., 2009a).

Die genetische Prädisposition wird zusätzlich von Umweltfaktoren moduliert (Rethelyi et al., 2013), deren Zusammenspiel unklar ist. Die Wirkung von Umwelt und Genetik ist nicht rein additiv (Gen + Umwelt), sondern wird durch wechselseitige Gen-Umwelt-Interaktion überproportional modifiziert (Gen \times Umwelt). So kann der Einfluss des Genotyps von der Umwelt abhängen oder der Einfluss der Umwelt vom Genotyp. Bei Ersterem hängt das Krankheitsrisiko vom Grad der Exposition mit einem Umweltfaktor ab, bei Letzterem hängt das Krankheitsrisiko davon ab, wie sehr sie ihr individuelles genetisches Profil für einen exponierten Umweltfaktor anfällig macht (Duncan und Keller, 2011). So entwickelten Menschen mit einer genetischen Variante des Catechol-O-Methyltransferase Gens (COMT) durch Cannabis-Konsum häufiger eine Psychose, während Personen mit normalem COMT-Gen eher unauffällig blieben (Caspi et al., 2005).

Zum Zusammenspiel von Umwelt und Genetik wurden in der Vergangenheit mehrere Modelle vorgeschlagen:

Die „two-hit Hypothese“ der Schizophrenie nimmt an, dass ein genetischer Defekt (Genmutation) zu einem gestörten neuronalen Netzwerk führt (erster „hit“), das in Kombination mit einem späteren Umweltereignis wie z.B. einer Virusinfektion (zweiter „hit“) den Ausbruch der Krankheit hervorruft (Bayer et al., 1999). Da voneinander unabhängige Umweltfaktoren eine synergetische Wirkung auf das Risiko für Schizophrenie ausüben können, sprechen manche Autoren von einer „multiple hit“ Hypothese (Giovannoli et al., 2013).

Die Dopamin-Hypothese der Schizophrenie geht von einem Ungleichgewicht des Dopamin-Haushaltes im Gehirn als Krankheitsursache aus. Dieses Konzept von einer reinen Störung der neuronalen Signalweiterleitung wird zunehmend verlassen (Flint und Munafo, 2014).

Heute wird die Schizophrenie zunehmend als Hirnentwicklungsstörung angesehen. Der oder die damit einhergehenden fundamentalen Prozess(e) bleibt(en) jedoch unklar (Laruelle, 2014).

1.1.8.1 Genetische Faktoren

Ein maßgeblicher Beitrag der Genetik an der Entwicklung der Schizophrenie ist unbestritten. Schon früh zeigten Zwillingsstudien, dass Schizophrenie signifikant häufiger bei eineiigen Zwillingspärchen auftritt als bei zweieiigen. Die Erblichkeit wird anhand von Zwillingsstudien auf 81 Prozent (Sullivan et al., 2003), anhand von Genanalysen auf über 32 Prozent (Ripke et al., 2013) und anhand einer großen Familienstudie auf 64 Prozent geschätzt (Lichtenstein et al., 2009).

Familienstudien

In Familienstudien wird das Erkrankungsrisiko von nahen Angehörigen untersucht. So haben Verwandte ersten Grades ein 9-fach erhöhtes relatives Risiko an Schizophrenie zu erkranken, während das Risiko von angeheirateten Ehepartnern nicht erhöht ist (Giegling et al., 2008). Weil alle Familienmitglieder den ähnlichen Bedingungen ausgesetzt sind, lassen sich auf diese Weise genetische Einflüsse nicht von Umwelteinflüssen trennen.

Zwillingsstudien

In Zwillingsstudien zeigte sich früh, dass Schizophrenie signifikant häufiger bei eineiigen Zwillingspärchen auftritt als bei zweieiigen Pärchen. Die Erblichkeit (Heritabilität) wurde anhand dieser Studien auf 81 Prozent geschätzt (Sullivan et al., 2003). Vorsichtiger Schätzungen gehen von 40 Prozent genetischem Einfluss aus (van Os et al., 2010), weil dem Studiendesign zugrunde liegende methodische Schwächen, die die Gen-Umwelt-Interaktionen nicht berücksichtigen, dabei möglicherweise den Effekt überschätzen (Keller et al., 2010). Dass sich dabei keine vollständige Konkordanz zeigte, legt eine multifaktorielle Ätiologie nahe.

Adoptionsstudien

Mit Adoptionsstudien sollten Genetik und Umweltfaktoren weitgehend voneinander getrennt werden. Dabei behielten Kinder von schizophrenen Eltern, die bei gesunden Eltern lebten, ihr erhöhtes Erkrankungsrisiko bei. Andersherum zeigten Kinder gesunder Eltern, die in Familien mit Schizophrenie lebten, kein erhöhtes Risiko (Petersen und Sorensen, 2011).

1.1.8.2 Umweltfaktoren

Eine Beteiligung von Umweltfaktoren wird aus einer Vielzahl von Studien geschlossen, darunter epidemiologische Beobachtungen (McGrath et al., 2008), Zwillingsstudien (Sullivan et al., 2003) und Tiermodelle (Karl und Arnold, 2014). Selbst in Personen mit starker genetischer Veranlagung zur Schizophrenie wirken dennoch Umwelteinflüsse mit (Husted et al., 2012).

Empirisch belegte Zusammenhänge existieren für viele Umwelteinflüsse, darunter pränatale Infektionen, Geburtskomplikationen, Stadtleben, Suchtmittelkonsum (z.B. Cannabis), hohes väterliches Alter und traumatische Kindheitsereignisse (Rethelyi et al., 2013). Auf epidemiologische Faktoren (Stadtleben, Migration) wurde bereits eingegangen (Kapitel 1.1.2).

Es fällt auf, dass viele der Risikofaktoren im Vergleich zur Krankheitshäufigkeit sehr viel häufiger vorkommen (z.B. Stadtleben oder Cannabis Konsum). Dieser Zusammenhang wird auch durch den geringen bis moderaten Einfluss (2 bis 5-faches Risiko) einzelner Umweltfaktoren widerspiegelt (van Os et al., 2010). Es scheint daher plausibel, dass nicht alle Menschen gleichermaßen beeinflusst werden. Es wird vermutet, dass diese Faktoren ihre neuropathologische Wirkung primär in genetisch anfälligen Personen ausüben (Clarke et al., 2009). Beispielsweise reagierten Menschen mit einem bestimmten Allel des Catechol-O-Methyltransferase Gens (COMT) auf Cannabis-Konsum häufiger mit der Entwicklung einer Psychose, während das bei Personen ohne dieses Risikoallel nicht feststellbar war (Caspi et al., 2005). Die Wirkung unabhängiger Faktoren könnte dabei synergetisch wirken – beginnend bei Ereignissen in der Schwangerschaft. Das zeigt eine Tierstudie, in der eine pränatale Immunaktivierung durch eine Infektion eine erhöhte Anfälligkeit für pubertären Stress auslöste (Giovannoli et al., 2013). Ein denkbarer Mechanismus könnte in der epigenetischen Regulation liegen. So zeigten epidemiologische Studien und Tierstudien, dass perinataler Stress zu dauerhaften Änderungen von MicroRNA Expression, DNA Methylierung und Histonmodifikation führte (Babenko et al., 2015).

Frühkindliches Trauma

Es gibt eine starke Assoziation zwischen psychischem Trauma in der Kindheit (sexueller Missbrauch, körperlicher Missbrauch, Vernachlässigung, Tod der Eltern,

Mobbing) und einem erhöhten Risiko eine Psychose zu entwickeln, wie eine Meta-Analyse zeigt (Varese et al., 2012). Dabei zeigt sich zunehmend, dass dieser Zusammenhang durch die Entwicklung einer pathologischen Stressantwort vermittelt wird, die eine Dysregulation der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse, Störungen von verschiedenen Neurotransmittersystemen, Schäden im Hippokampus und Gedächtnisdefizite beinhaltet (Ruby et al., 2014). Sexueller Missbrauch in der Kindheit geht mit einem 2,6-fachen Risiko für Schizophrenie einher (Cutajar et al., 2010).

Cannabis Konsum

Cannabis Konsum und ein erhöhtes Risiko für Schizophrenie wurde in vielen Studien bestätigt (Di Forti et al., 2009). Der Hauptwirkstoff des Cannabis, delta-9-tetrahydrocannabinol (THC), verursachte bei Gesunden in Studien transiente psychotische Symptome und kognitive Einbußen (Morrison et al., 2009). Schizophrene Patienten zeigten dabei eine gesteigerte psychotische Antwort mit Verschlechterung der klinischen Symptomatik (D'Souza et al., 2005). Eine ähnliche Wirkung wurde auch für verwandte synthetische Cannabinoide beobachtet (Celofiga et al., 2014).

Ob der Konsum von Cannabis bei beginnenden psychotischen Symptomen einen Versuch der Eigenmedikation darstellt, oder im Gegenteil diese erst verursacht, ist nach wie vor nicht geklärt (Ferdinand et al., 2005). Die Studienlage lässt dazu wegen kleiner Fallzahlen und mangelnder Qualität noch keine Schlussfolgerungen zu (McLoughlin et al., 2014).

Pränatale Infektion

Eine pränatale Infektion ist mit einem erhöhten Risiko für Schizophrenie assoziiert (Brown und Derkits, 2010, Khandaker et al., 2013). Als Krankheitserreger werden primär das parasitäre Urtierchen *Toxoplasma gondii* und diverse Virenarten (Herpes Simplex Typ 2, Influenza, Cytomegalie, Rubella) vermutet. Eine fetale Infektion geht dabei mit strukturellen und funktionellen Gehirnveränderungen einher, wie sie auch für Schizophrenie typisch sind (Khandaker et al., 2013). Der ursächliche Krankheitsmechanismus scheint jedoch nicht die plazentare Übertragung der Erreger von der Mutter auf das Kind zu sein, sondern die Aktivierung des mütterlichen Immunsystems (Hsiao und Patterson, 2011). Die

damit einhergehende Entzündungsreaktion geht mit erhöhten Entzündungsmediatoren (z.B. Interleukin-6) einher und verursacht einen erhöhten oxidativen und nitrosativen Stress. Diese Faktoren könnten zur Störung der kindlichen Entwicklung führen (Debnath et al., 2014).

Hohes Väterliches Alter

Eine Assoziation des fortgeschrittenen Alters des Vaters mit Schizophrenie gilt durch epidemiologische Studien als solide (McGrath et al., 2014). Ein möglicher Grund sind erhöhte Raten von Neumutationen. So zeigt eine Studie eine lineare Beziehung zwischen väterlichem Alter und Anzahl der Neumutationen bei Kindern auf (Kong et al., 2012). Ein Pathomechanismus könnte in einer altersabhängig zunehmend enthemmten klonalen Proliferation pathologischer Stammzellen im Hoden liegen, wodurch Spermien mit pathologischen Mutationen angereichert werden (Goriely et al., 2013).

1.1.8.3 Schizophrenie als Hirnentwicklungsstörung

Das derzeit verbreitetste Krankheitsmodell der Schizophrenie geht von einer Störung der Hirnentwicklung aus (*neurodevelopmental theory*). Demnach stellt Schizophrenie das Endergebnis gestörter neurologischer Entwicklungsprozesse dar, die viele Jahre vor dem Beginn der klinischen Symptomatik durch eine Kombination von Umwelteinflüssen und genetischen Faktoren ausgelöst werden (Rapoport et al., 2005). Eine Vielzahl wissenschaftlicher Erkenntnisse der letzten Jahre, unter anderem aus Bildgebung und Genetik, untermauern diese Theorie (Gupta und Kulhara, 2010).

Genetische Untersuchungen von seltenen und häufigen Varianten lassen stark eine Beteiligung von Genen vermuten, die sowohl an der Immunabwehr als auch in der Hirnentwicklung beteiligt sind (Rapoport et al., 2012).

Eine Meta-Analyse zu Hirnvolumina, die durch Computertomographie (CT) und Magnetresonanztomographie (MRT) von Schädeln gemessen wurden, zeigt bei Erkrankten eine Reduktion des Schädelvolumens um 2 Prozent im Vergleich zu Gesunden mit vergleichbarer Reduktion der weißen Hirnsubstanz (Haijma et al., 2013). Das größte Schädelwachstum liegt in der frühen Kindheit und ist bis zum 5. Lebensjahr zu 90 Prozent (Sgouros et al., 1999) und bis zu Beginn der Adoleszenz komplett abgeschlossen (Courchesne et al., 2000). Daher muss ein

Teil der Hirnvolumen-minderung bereits vor dem Erreichen der Adoleszenz eingetreten sein. Korrelierend dazu ist die Masse an weißer Hirnsubstanz vermindert. Eine Deutlich ausgeprägter ist die Verminderung der grauen Substanz - Nervenzellkörper, Stützzellen und Blutgefäße - die mit einer Erweiterung der Hirnventrikel (laterale Ventrikel und dritter Ventrikel) einhergeht (Haijma et al., 2013). Der Verlust korreliert mit der Schwere der prämorbidem Beeinträchtigung und der Grundsymptomatik (Sporn et al., 2003).

Die Adoleszenz wird als Phase ausgedehnter neuronaler Umbauprozesse gesehen, bei der es physiologisch zur Reduktion von überflüssigen Neuronen und Synapsen kommt (Keshavan et al., 1994). In postmortem Studien wurde anhand der Dichte von Nervenzellfortsätzen im PFC und der Myelinisierung von Nervenfasern festgestellt, dass die Umbauprozesse nicht in der Adoleszenz enden, sondern erst Mitte der dritten Lebensdekade abgeschlossen sind (Petanjek et al., 2011, Miller et al., 2012). Schizophrene Patienten zeigten eine Verzögerung bei der Ausreifung der grauen Substanz, die während der Adoleszenz besonders prägnant war (Douaud et al., 2009).

Es entsteht das Bild einer frühen Schädigung, die über weite Zeiträume der Hirnentwicklung latent bleibt und sich in der späten Adoleszenz oder im frühen Erwachsenenalter als Psychose manifestiert (Insel, 2010). Weitere Hinweise ergeben sich im Tiermodell. Das Disrupted-in-Schizophrenia-1-Gen (DISC1), bei dem eine Beteiligung an der Hirnentwicklung vermutet wird, wurde selektiv in Neuronen des PFC von Mäusen und nur vorübergehend während der Prä- und Perinatalzeit ausgeschaltet (Niwa et al., 2010). Dieser Knock-out führte erst im Erwachsenenalter zu physiologischen Auffälligkeiten, die denen der Schizophrenie ähnelten. Es besteht also die Möglichkeit, dass subtile und selektive Störungen in der Frühphase der Entwicklung lang anhaltende Konsequenzen auslösen können (Thompson und Levitt, 2010).

Warum Schizophrenie erst so spät auftritt und auch nur bei einem Teil der Patienten, bleibt aufzuklären. Es wäre denkbar, dass die Schädigung dem Körper anspruchsvollere Kompensationsmechanismen abnötigt, die im Verlauf nicht aufrecht erhalten werden können und deren Dekompensation als Schizophrenie symptomatisch wird (Thompson und Levitt, 2010). Ebenso gut ist es möglich, dass Mechanismen oder Regulationsprozesse geschädigt werden, deren Fehlfunktion so lange unbemerkt bleibt, bis sie in der Adoleszenz wichtig werden, wie zum

Beispiel bei der exakten Balance von exzitatorischen und inhibitorischen Synapsen (Insel, 2010).

Einige Beobachtungen lassen sich mit der Hirnentwicklungsstörung allein nicht erklären. Neuro-CT- und Neuro-MRT-Aufnahmen zeigen einen fortschreitenden Verlust an grauer Substanz in den ersten Krankheitsjahren, der einher geht mit sich vergrößernden Hirnventrikeln (Haijma et al., 2013). Ein Ansatz zur Erklärung dieser Beobachtung vermutet einen progressiven Abbau der Hirnsubstanz durch einen neurodegenerativen Vorgang, der ergänzend stattfindet (DeLisi, 2008). Alternativ könnte es auch als plastische Antwort auf eine medikamentöse Therapie oder andere Umwelteinflüsse gewertet werden (Zipursky et al., 2013, Moncrieff und Leo, 2010). Neuere Publikationen argumentieren gegen diese Hypothese (Zipursky et al., 2013, Bora, 2015).

Das zukünftige Ziel wird es sein, biologische und soziale Umweltfaktoren, die für ein erhöhtes Psychoserisiko ausschlaggebend sind, während kritischer Entwicklungsphasen zu erkennen und durch die Entwicklung neuer Präventionsmaßnahmen auszuschalten (Walder et al., 2014).

1.2 Molekulargenetik der Schizophrenie

Die Sequenzierung des menschlichen Genoms – die Identifizierung der gesamten Abfolge der Basenpaare der ca. 25.000 Gene die die menschliche DNA darstellen – hat gezeigt, dass die Sequenz bei jedem Menschen zu über 99 Prozent übereinstimmt (Lander et al., 2001). Das bedeutet bei 3,3 Milliarden Basenpaaren mehr als 12 Millionen mögliche Variationen. Solche Variationen, die sich in der Vergangenheit als evolutionär „erfolgreich“ herausgestellt haben, wurden häufiger geerbt bzw. vererbt und reicherten sich im menschlichen Genpool an. Liegen die Variationen in der Bevölkerung selten vor (< 1 Prozent), werden sie Mutationen genannt, liegen sie häufiger vor, Polymorphismen.

Diese Polymorphismen können verschiedene Formen annehmen. Zum einen können sie nur ein einzelnes Basenpaar betreffen, dann handelt es sich um einen Einzelnukleotid-Polymorphismus (SNP). Das ist die mit Abstand häufigste Variation. Zum anderen können sie einen ganzen zusammenhängenden Abschnitt der DNA betreffen, der mehrfach eingebaut (Insertion) oder entfernt (Deletion) sein kann, eine sogenannte Kopienzahlvariation (CNV). Der betroffene Abschnitt

kommt im Genom - statt normalerweise doppelt - dann einfach oder vielfach vor (Attia et al., 2009a). In der maximalen Ausprägung können ganze Chromosomen einfach (Monosomie) oder mehrfach (z.B. Trisomie 21) auftreten.

Eine Vielzahl von genetischen Studien lässt vermuten, dass der Schizophrenie eine polygene Erbanlage zugrunde liegt, bei der wenige CNVs mit starkem Einfluss und viele SNPs mit schwachem Einfluss das Krankheitsrisiko erhöhen (Sullivan et al., 2012). Mehrere oder viele Variation könnten dann in der Summe substanziell zur Schizophrenie beitragen (Purcell et al., 2009).

Die primäre analytische Herangehensweise zur Kartierung, Entdeckung und statistische Charakterisierung der Beziehung von Genotyp und Phänotyp sind Kopplungsstudien und Assoziationsstudien (Borecki und Province, 2008). Beide Methoden haben einen unterschiedlichen Ansatz, ergänzen sich jedoch in der Praxis. Zeigen beide Verfahren einen Zusammenhang mit einem Gen, so dient das als Hinweis auf Plausibilität.

Die Auswahl der Genvarianten erfolgte häufig bevorzugt nach der Höhe der *a priori* Wahrscheinlichkeit, mit der die Varianten in das Krankheitsgeschehen involviert waren. Diese sogenannten Kandidatengene wurden dabei hypothetisch gemäß bekannter oder vermuteter Biologie und Funktion oder positiver Assoziationen in vorangegangenen Studien selektiert (Need et al., 2009b). Dieser Ressourcen schonende Ansatz wurde im Rahmen des zunehmenden biotechnologischen Fortschritts zugunsten hypothesenfreier genomweiter Untersuchungen verlassen.

1.2.1.1 Kopplungsanalysen

Kopplungsanalysen identifizieren eine breite chromosomale Region, die mutmaßliche Risikogene bzw. -varianten enthält (Levinson, 2005). Das geschieht, indem das Vererbungsmuster von zuvor identifizierten Genmarkern beobachtet wird. In mit Schizophrenie belasteten Familien werden zwei oder mehr Angehörige untersucht und für jede Person das individuelle Marker-Muster in Form einer Kartierungskarte bestimmt. Werden anschließend die Muster der Kartierungskarten verglichen, so lassen sich Marker finden, die überzufällig häufig mit Schizophrenie in Verbindung gebracht werden.

Die genetische Grundlage wird durch zufälligen Allelaustausch während des Vererbungsvorgangs hervorgerufen (Crossing-over). Dementsprechend ergeben

sich theoretisch unzählig viele neue Allelkombinationen. Dass in der Praxis weitaus weniger Kombinationen gefunden werden, liegt an der Tendenz von physikalisch benachbarten Allelen, gemeinsam vererbt zu werden, der sog. Kopplung (*linkage*) (Attia et al., 2009a).

Jeder identifizierte Marker steht stellvertretend für den umgebenden Genabschnitt (Gen-Locus). Dabei nimmt die Aussagekraft mit zunehmender Distanz von Marker und Gen ab, was durch den Wert der Kopplungsintensität ausgedrückt wird. Ein Zusammenhang zwischen einem Marker und Schizophrenie wird ab einem *logarithm of odds* - (*LOD*)-Score von über 3,0 als signifikant erachtet (die Irrtumswahrscheinlichkeit liegt weniger als 1:10000).

Ein positiver Marker ist ein starkes Indiz, jedoch kein Beweis für eine Beteiligung der umgebenden Gene. Es ist jedoch ein guter Anhaltspunkt, dort mit der weiteren Suche anzufangen (Flint und Munafo, 2014). Eine Studie zum FTO-Gen bei Adipositas zeigte jüngst, dass dieser Ansatz dennoch nicht uneingeschränkte Gültigkeit hat. Eine Variante im Intron des Gens FTO beeinflusst nicht das FTO Gen selbst, wie erwartet wurde, sondern wirkt sich verstärkend auf die Expression des weiter entfernten IRX3-Gens aus (Gorkin und Ren, 2014).

Die Ergebnislage zu Kopplungsstudien ist inkonsistent, was möglicherweise an der zugrundeliegenden genetischen Architektur mit Beteiligung von seltenen Mutationen (CNV) und der ausgeprägten Heterogenität der Loci liegt (Levinson, 2005). Neuere genomweite Kopplungsstudien (GWLS) beschränken sich bei der Markerwahl nicht auf Regionen mit Kandidatengenen, sondern verwenden tausende relativ gleichmäßig über das gesamte Genom verteilte DNA-Marker. In einer Meta-Analyse wurden 16 GWLS aus den Jahren 2000 bis 2010 mit zwei Meta-Analytischen Methoden (*Gershon's multiple scan probability* und *genome scan meta-analysis*) ausgewertet (Tang et al., 2011). Von 22 genomischen Regionen mit signifikanten Ergebnissen überlappte nur eine Region auf Chromosom 6 im Bereich 6q23.2-q24.3 teilweise. Interessanterweise wurde diese Region bislang von keiner genomweiten Assoziationsstudie markiert. Die Autoren der Studie geben zu bedenken, dass bei geringem Beitrag der Loci zu Schizophrenie Kopplungsstudien nicht die Methode der Wahl darstellen.

1.2.1.2 Assoziationsstudien

Assoziationsanalysen sollen spezifische DNA-Varianten (SNPs bzw. CNVs) identifizieren, die das Schizophrenierisiko direkt erhöhen. Dabei wird die Stichprobe auf eine Diskrepanz zwischen tatsächlichem und erwartetem Zusammentreffen von Allelen und dem Krankheitsphänotyp untersucht. Erschwert wird die Suche durch ein Kopplungsungleichgewicht, das heißt die gehäufte Vererbung benachbarter Genabschnitte (seltenes Crossing-over), was eine eindeutige Zuordnung verhindert (Levinson, 2005).

Einzelnukleotidpolymorphismen (SNPs)

Weil die Detektion von SNPs relativ einfach ist und sie für den Großteil der genetischen Varianz verantwortlich sind, haben sie von Beginn an im Fokus der Wissenschaft gestanden (Attia et al., 2009a). Die mit Schizophrenie assoziierten SNPs sind in der Bevölkerung häufig vorhanden (*common variant*), in der Regel liegt der Bevölkerungsanteil bei >5 Prozent (Iacono et al., 2014). Es wird geschätzt, dass SNPs zu etwa 23 Prozent direkt zur Schizophrenie beitragen (Lee et al., 2012).

Bei modernen genomweiten Assoziationsstudien (GWAS) werden bei Probanden viele hunderttausend (bis zwei Millionen) SNPs über das ganze Genom verteilt analysiert. Mit Hilfe von GWAS konnten 108 unabhängige DNA-Abschnitte identifiziert werden, die mit Schizophrenie assoziiert sind (Ripke et al., 2014). Bis heute wurden über ein Dutzend GWAS (Athanasios et al., 2010, Need et al., 2009a, O'Donovan et al., 2008, Stefansson et al., 2009, Kirov et al., 2009, Steinberg et al., 2011, Shi et al., 2011, Ripke et al., 2013) und vier Meta-Analysen veröffentlicht (Wang et al., 2010, Shi et al., 2009, Stefansson et al., 2009, Ripke et al., 2014). In die Auswertung der aktuellen Meta-Analyse flossen die Daten von ca. 150.000 untersuchten Personen ein. Es zeigt sich eine Korrelation von Stichprobenzahl und gefundenen Gen-Loci (Abbildung 1-4, S. 34) (Flint und Munafo, 2014).

Die Daten lassen darauf schließen, dass die SNPs über hunderte verschiedene Loci verstreut sind (Sullivan et al., 2012). Der Großteil der bislang gefundenen Loci enthält ein oder mehrere Gene, die Proteine codieren und die sich in mehrere Gruppen mit ähnlichen Funktionsbereichen unterteilen lassen. Ein Schwerpunkt zeichnet sich im Bereich der neuronalen Plastizität und der Signalweiterleitung ab.

So sind Assoziationen mit Genen für den Dopamin-Rezeptor Typ-2 (DRD2), für den Hirnbotsstoff (Neurotransmitter) Glutamat (GRM3, GRIN2A, SRR, GRIA1) und für Untereinheiten des Kalzium-Kanals (CACNA1C, CACNB2, CACNA1I) gefunden worden (Ripke et al., 2014). Ein weiterer Schwerpunkt lässt auf eine Beteiligung des Immunsystems schließen. Eine der ersten und gleichzeitig die bislang stärkste Assoziation liegt im Bereich des Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC) auf Chromosom 6 (Sullivan et al., 2012). Der MHC ist ein Abschnitt mit einer Gruppe von Genen, die bei Immunerkennung, Gewebeverträglichkeit und immunologischer Individualität eine zentrale Rolle spielen. Assoziationen fanden sich auch mit Genen des erworbenen Immunsystems, die zur B-Zell-Aktivierung dienen (CD19, CD20).

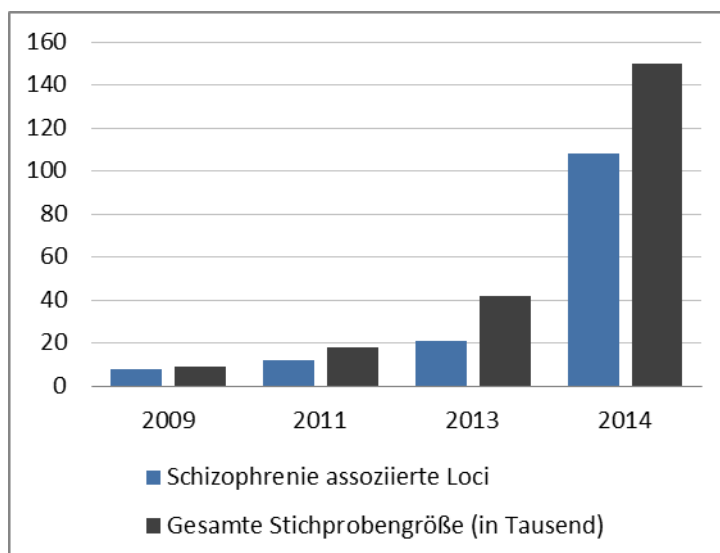


Abbildung 1-4: Fortschritt bei der Identifizierung von Gen-Orten bei Schizophrenie Seit 2009 haben genomweite Assoziationsstudien zunehmend mehr Treffer ergeben. Es zeigt sich eine Korrelation von untersuchten Proben und der Zahl der gefundenen Orte (Abb. nach Flint 2014).

Kopienzahlvariationen (CNVs)

Die erste Assoziation von Genen und Schizophrenie konnte für CNVs belegt werden. Aufgrund seiner Länge können CNVs dabei auch mehrere Gene umfassen und substanziellen Einfluss auf den Phänotyp ausüben (Hosak et al., 2012). Der vergleichsweise starke Zusammenhang zwischen Genotyp und Phänotyp macht sie auch für die Forschung interessant (Luo et al., 2014).

Die mit Schizophrenie in Verbindung gebrachten CNVs sind groß (Länge >100kb), selten (weniger als 1 von 10.000), potent (5 bis 20-faches Risiko) und unvollständig penetrant (Sullivan et al., 2012). Diese Risikovarianten sind in der

Regel Neumutationen, weil Schizophrenie mit geringerer Zahl an Nachkommen einhergeht (Svensson et al., 2007), was zur Auslese der CNVs und zu niedrigen Allelfrequenzen führt (*rare variants*). Bei schizophrenen Patienten wird eine deutlich erhöhte Neumutationsrate beobachtet (Kirov et al., 2012). Obwohl selten, führt ihre große Potenz dazu, dass der genetische Beitrag von CNVs auf 20 Prozent geschätzt wird (Wright, 2014).

Die CNV Gen-Loci mit der bislang statistisch größten Assoziation sind Deletionen an den Positionen 1q21.1, 2p16.3, 3q29, 15q11.2, 15q13.3 sowie 22q11.2 und Duplikationen an den Positionen 16p11.2, 16p13.1 sowie 17q12 (Hosak et al., 2012, Kirov et al., 2012, Grozeva et al., 2012, Szatkiewicz et al., 2014). Es wird vermutet, dass diese CNVs die Funktion sowohl der direkt betroffenen als auch der benachbarten Gene beeinträchtigen können und damit das Risiko für Schizophrenie erhöhen. Eine systematische Auswertung priorisiert die Gene, die in den bisherigen Studien am häufigsten von CNVs beeinträchtigt wurden. Es finden sich acht mögliche „Top-Gene“ - NRXN1, CHRNA7, BCL9, CYFIP1, GJA8, NDE1, SNAP29 und GJA5 (Luo et al., 2014). Das vielversprechendste Gen, das in allen Studien betroffen war, ist NRXN1 und gehört zur Neurexin-Genfamilie, die an Zelladhäsion und Rezeptorbildung von Neuronen beteiligt ist. Hier ist NRXN1 an der Freisetzung von Neurotransmittern in den synaptischen Spalt beteiligt und moduliert neurale Netzwerke, indem es Synapsen ihre Funktion zuweist. Neben NRXN1 sind zwei weitere der acht genannten Kandidaten an der synaptischen Weiterleitung beteiligt (CHRNA7 und CYFIP1). Das lässt vermuten, dass CNVs unter anderem einen starken pathologischen Einfluss auf die Funktion der Synapse bei Schizophrenie nimmt.

Ausblick

Die Erkenntnis zur Genetik der Schizophrenie hat in den letzten Jahren rasant zugenommen (McGrath et al., 2013). Diese lässt vor allem erahnen, wie umfangreich das Ausmaß der genetischen Einflüsse ist. So interagieren tausende von Risikoallelen aus codierenden und nicht codierenden DNA-Abschnitten miteinander (Purcell et al., 2014). Zudem zeichnet sich eine gemeinsame genetische Basis mehrerer psychologischer Erkrankungen ab. Zunehmend gut belegt sind genetische Gemeinsamkeiten mit Autismus (Rapoport et al., 2012, Consortium, 2013) und mit bipolaren Störungen (Purcell et al., 2009).

Teilweise finden sich bereits jetzt Überlappungen bei Genen oder Loci, die in GWAS und in CNV-Studien mit Schizophrenie assoziiert sind (Ripke et al., 2014). Beispiele sind Gengruppen, die die Funktion von Kalzium-Kanälen beeinflussen oder das Gen für das die seltene Erbkrankheit Fragiles-X-Syndrom verursachende FMR1-Gen. Das lässt hoffen, dass sich in Zukunft gemeinsame Mechanismen bzw. Gene identifizieren lassen (Szatkiewicz et al., 2014).

Möglicherweise liegt der Schlüssel in der Aufklärung der genetischen Interaktion auf Proteinebene. So lassen die bislang gefundenen Gene mehrere hochgradig verbundene Netzwerke auf Proteinebene vermuten. Dabei wäre es unerheblich, welche Gene im Einzelnen die Störung verursachen, da die Störungen unterschiedlicher Teile des Netzwerks die gleiche Wirkung hätten. Möglicherweise könnte das eine Erklärung für die genetische Vielfalt darstellen (Luo et al., 2014).

1.3 Kognitive Endophänotypen

Derzeit werden zwei theoretische Herangehensweisen genutzt, um mit Schizophrenie assoziierte Gene zu finden: der erste Ansatz ist Hypothesen-frei und nutzt die klinische Diagnose als zu untersuchenden Phänotyp, der zweite ist von einem hypothetischen Konzept bestimmt und nutzt intermediäre neurobiologische Phänotypen oder Endophänotypen (Bertolino et al., 2009). Unter Phänotyp wird ein endgültiges Merkmal verstanden (z.B. Haarfarbe, Körpergröße), das ein Genprodukt in Zusammenarbeit mit anderen Genen und Umwelteinflüssen ausbilden kann (Attia et al., 2009a).

1.3.1 Das Konzept der Endophänotypen

Eine Verbindung zwischen Genen und Schizophrenie herzustellen, erwies sich schwerer als erwartet. Der Grund für die schwache Assoziation liegt in der ausgeprägten genetischen und klinischen Heterogenität zwischen dem Genotyp mit seinen Varianten von molekularbiologisch bestimmbar DNA-Sequenzen und den heterogenen, zeitlich variablen Phänotypen (Attia et al., 2009a).

Zur Lösung dieses Dilemmas wurde das Konzept der sogenannten intermediären Phänotypen bzw. Endophänotypen erdacht (Gottesman und Gould, 2003). Anstatt die variable Klinik der Krankheit (Phänotyp) als Ausgangspunkt zur Suche von Assoziationen zu nutzen, sollen als Parameter molekularbiologisch messbare

Größen oder Vorgänge dienen, die näher als die Phänotypen an der genetischen Basis liegen. Anders gesagt: wird von einer genetischen Ebene und einer klinischen Ebene ausgegangen, so liegen intermediäre Phänotypen auf einer eigenen Ebene, die zwischen den beiden Ebenen steht. Das hat konzeptionelle Vor- und Nachteile:

- (1) Durch die größere Entfernung zur Klinik sind sie für Untersucher nur erschwert und mit größerem apparativem Aufwand ersichtlich.
- (2) Die größere Nähe zur genetischen Basis bedingt eine weniger komplexe Genetik, was die Suche nach entsprechenden Genen und die Entschlüsselung der molekularbiologischen Grundlagen vereinfachen sollte.
- (3) Die Nähe bedingt eine stärkere genetische Assoziation von Endophänotyp und Genetik. Idealerweise ist der intermediäre Phänotyp beispielsweise bei Risikogruppen (z.B. nahen Verwandten von schizophrenen Patienten) bereits voll ausgeprägt, auch wenn Schizophrenie nicht oder nur zu Teilen ausgeprägt ist. Dadurch ließen sich mehr Angehörige in Studien einschließen, was Probandenzahl und Studien-Power erhöht (Gottesman und Gould, 2003, Cannon, 2005).

Die Schwierigkeit liegt in der Identifikation geeigneter intermediärer Phänotypen, die den Annahmen gerecht werden (Walters und Owen, 2007). Dazu müssen geeignete Endophänotypen einer Reihe von qualitativen Voraussetzungen bzw. Auswahlkriterien genügen, die von Gottesman definiert wurden (Gottesman und Gould, 2003). Demnach müssen sie

- (1) mit Schizophrenie in der Bevölkerung assoziiert sein
- (2) erblich sein
- (3) unabhängig von der Krankheitsphase stabil nachweisbar sein
- (4) innerhalb einer Familie bei erkrankten Familienmitgliedern stärker gestört sein als bei gesunden Familienmitgliedern
- (5) bei nahen Angehörigen von Erkrankten stärker beeinträchtigt sein als bei gesunden Vergleichsprobanden, weil sie die Anfälligkeit für eine Erkrankung darstellen nicht die Erkrankung selbst.

Darüber hinaus sollen sie reliabel messbar und stärker mit Schizophrenie als mit anderen Psychiatrischen Erkrankungen assoziiert sein (Chan und Gottesman, 2008).

Ob es sich um neurophysiologische, -psychologische, -anatomische oder neurokognitive Größen handelt, ist unerheblich. Gut untersuchte neurophysiologische Endophänotypen sind die zerebrale P50 Suppression von wiederholten auditorischen Stimuli (Olinic et al., 2010), abnormale auditorische N100 Amplituden (Turetsky et al., 2008) und Antisakkaden-Verhalten bei Augenbewegungen (Radant et al., 2010). Pathophysiologisch scheinen bei allen drei Endophänotypen neurale Defizite bei der Inhibition eine Rolle zu spielen. Studien zeigen dabei ein belastbares Defizit der schizophrenen Patienten wie auch ihrer erstgradigen Angehörigen (Swerdlow et al., 2015), eine signifikante Erbllichkeit von im Mittel 30 Prozent (Light et al., 2014).

Die Validität der neurobiologischen Endophänotypen wird dabei wegen ihrer Störanfälligkeit in Frage gestellt (Jonas und Markon, 2014).

1.3.2 Eignung neurokognitiver Leistungsdefizite als Endophänotyp

Defizite bei neurokognitiven Leistungen gelten als ein geeigneter Kandidat für einen Endophänotyp (Glahn et al., 2003).

Positive Aspekte

Neurokognitive Defizite sind mit Schizophrenie assoziiert und gelten als reliabel und von zentraler Bedeutung (Dickinson et al., 2007). Studiendaten der vergangenen drei Jahrzehnte zeigen konstant, dass Patienten mit Schizophrenie signifikant schwächer über einen weiten Bereich von kognitiven Aufgaben abschneiden als gesunde Probanden. Der Leistungsunterschied betrug in der jüngsten Meta-Analyse mit 100 Studienergebnissen im Zeitraum von 2006 bis 2012 gemittelt, eine Standardabweichung in allen kognitiven Bereichen (Schaefer et al., 2013). Dabei ließ sich kein kultureller, regionaler oder sprachlicher Einfluss auf die kognitive Leistung nachweisen. Besonders stark ausgeprägt sind die Defizite möglicherweise bei verbalem episodischem Gedächtnis, exekutiven Funktionen und Verarbeitungsgeschwindigkeit (Schaefer et al., 2013, Dickinson et al., 2007, Reichenberg und Harvey, 2007).

Neurokognitive Defizite finden sich auch bei gesunden Geschwistern von Patienten (Dickinson et al., 2007). Eine Studie verglich die Ergebnisse von 1064 Patienten mit 1057 nicht-betroffenen Geschwistern und 590 nicht-verwandten Kontrollen (Quee et al., 2014). Die Geschwister schnitten dabei in kognitiven Tests

besser ab als Probanden, jedoch schlechter als Kontrollpersonen. Zudem ließen sich bei Geschwistern drei neurokognitive Subtypen feststellen, die sich sowohl in der Schwere der kognitiven Beeinträchtigung als auch im Muster der stärker betroffenen Gedächtnisdomänen unterschieden. Die kognitiven Einschränkungen von Geschwistern schizophrener Patienten legt nahe, dass diese nicht allein auf den Krankheitsprozess und damit einhergehende Faktoren wie psychotische Episoden, mangelnde Bildung durch Arbeitslosigkeit oder Nebenwirkungen der Medikamenteneinnahme zurückführbar sind, sondern einen Krankheitsaspekt darstellen (Quee et al., 2014).

Studien lassen eine hohe Heritabilität der Kognition vermuten. In einer amerikanischen Familienstudie wurden 296 Familien mit einem Probanden, einem unauffälligen Geschwister und beiden Elternteilen auf mehrere kognitive und ihren klinischen Phänotyp (Diagnose) untersucht (Light et al., 2014). Zudem wurden von allen weiteren Angehörigen ersten Grades dieser Familien fremdanamnestisch psychiatrische Befunde erhoben. Dabei zeigten sich vergleichbare Heritabilitätsraten von Phänotypen – darunter Verbales Gedächtnis, Aufmerksamkeit und Arbeitsgedächtnis - und dem klinischen Phänotyp.

In kleinen Studien lässt sich bereits ein Teil der Interaktionen von neurokognitiven Endophänotypen und genetischen Risikovarianten (CNV und SNP-Varianten) durch genetische Interaktionen vorhersagen (Yeo et al., 2014).

Kognitive Einbußen sind im Krankheitsverlauf stabil. Das legt ein Review von Langzeitbeobachtungen nahe, die über einen beobachteten Zeitraum von 10 Jahren nach Erstmanifestation keine signifikante Änderung feststellten (Bozikas und Andreou, 2011). Demensprechend dürfte sich auch keine Relation zwischen klinischer Symptomatik und Kognition feststellen lassen, wie eine Meta-Analyse bestätigt (Schaefer et al., 2013). Gleichwohl steht dieser Befund in Kontrast mit mehreren Studien einschließlich einer Meta-Analyse, die eine schwache aber belastbare Assoziation von Kognition und Negativsymptomatik hergestellt haben (Dominguez Mde et al., 2009).

Multiple kognitive Defizite werden von Patienten mit Schizophrenie und bipolarer Störung geteilt. Dabei unterscheiden sich Schwere und Auswirkungen zum Teil zwischen den beiden Gruppen (Jabben et al., 2010). So werden Defizite im verbalen Gedächtnis und bei exekutiven Funktionen auch als geeignete Endophänotypen für bipolare Störungen angesehen (Raust et al., 2014). Jedoch

finden sich diese Störungen anders als bei Schizophrenie nur eingeschränkt bei unauffälligen Geschwistern (Nehra et al., 2014), was kognitive Dysfunktion als stärkeren Marker für Schizophrenie als für bipolare Störung zeigt (Jabben et al., 2010).

Negative Aspekte

Obwohl sich eine kognitive Beeinträchtigung von Patienten und ihren Verwandten zeigt, haben diese nur eine geringe Spezifität und Sensitivität (Keri und Janka, 2004). So sind diese Beeinträchtigungen nur bei einem Teil der Patienten vorhanden, wobei sich verschiedene kognitive Endophänotypen differenzieren lassen. Zudem gibt es eine Minderheit an Patienten, die keinerlei Defizite in den Tests aufweisen. Kognitive Subtypen der Endophänotypen beruhen häufig auf Querschnittsdaten mehrerer Bereiche und könnten keine echten neurobiologischen Eigenschaften darstellen (Heinrichs, 2005).

Möglicherweise sind die Ausprägungen geschlechtsabhängig. In einer Studie an 494 Männern und Frauen zeigte sich, dass Männer größere kognitive Defizite aufwiesen (Vaskinn et al., 2011). Studien mit einem höheren Anteil an männlichen Patienten zeigen zudem einen Trend zu höheren Effektmaßen (Schaefer et al., 2013).

Der Nutzen kognitiver Endophänotypen für die Suche und Charakterisierung von Genen könnte dadurch begrenzt sein, dass Kognition eine komplexe genetische Wurzel hat (Glahn et al., 2014).

1.3.3 Gedächtnis

Unter Gedächtnis wird die Fähigkeit des Nervensystems verstanden, aufgenommene Informationen zu kodieren, zu speichern und wieder abzurufen. Die gespeicherten Informationen sind das Ergebnis von bewussten oder unbewussten Lernprozessen. Das Gedächtnis stellt dabei eine Unterkategorie der Kognition dar (neben anderen Bereichen wie Wahrnehmung, Aufmerksamkeit, Lernen, Problemlösen, Willensbildung), mit der oft das Denken in einem umfassenden Sinne gemeint wird (Stephen und Mirman, 2010).

Darüber hinaus gibt es Hinweise, dass zumindest einige wenige Hirnregionen für einzelne höhergradige kognitive Funktionen spezialisiert sind (Kanwisher, 2010).

Die neurobiologische Grundlage des Gedächtnisses ist die Encodierung von Information. Diese beruht auf der Erstellung synaptischen Verbindungen von unterschiedlicher Stärke im kortikalen Netzwerk. Je stärker eine solche Gedankenspur oder Engramm vernetzt ist, desto besser ist die Information erinnerlich. Insbesondere die Langzeit-Potenzierung (*long term potentiation*, LTP) und Langzeit-Depression (*long term depression*, LTD) des Gedächtnisses über NMDA-Rezeptoren spielt dabei eine zentrale Rolle. Dabei werden die synaptischen Verbindungen dauerhaft verstärkt oder abgeschwächt (McClelland et al., 1995).

Nach dem Multispeichermodell von Atkinson und Shiffrin lässt sich das Gedächtnis zeitlich in drei Abschnitte unterteilen (Atkinson und Shiffrin, 1968). Dabei wird unterschieden zwischen sensorischem Gedächtnis oder Ultrakurzzeitgedächtnis, Kurzzeitgedächtnis und Langzeitgedächtnis (Abbildung 1-5). Diese werden von verschiedenen Hirnbereichen ausgeführt (Squire und Zola-Morgan, 2015)

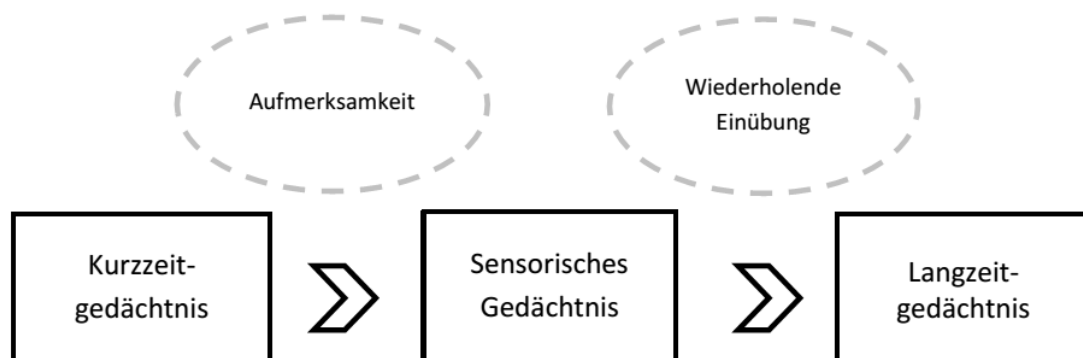


Abbildung 1-5: Multispeichermodell die drei Phasen des zeitlichen Gedächtnisablaufs nach (Atkinson und Shiffrin, 1968).

Wenn ein Umweltreiz über Sinnesorgane aufgenommen wird, so ist er eine sehr kurze Zeit (Millisekunden bis 2 Sekunden) im sensorischen Gedächtnis oder Ultrakurzzeitgedächtnis abgebildet. Jedes Sinnesorgan verfügt über sein eigenes sensorisches Gedächtnis, in dem die Informationen unverarbeitet für einen möglichen Zugriff des Kurzzeitgedächtnisses bereitgehalten werden. Diesen sensorischen Gedächtnisspeichern lassen sich fest umschriebene kortikale Felder zuordnen (Kanwisher, 2010). Wird Aufmerksamkeit auf einen Gedächtnisinhalt

gerichtet, so wird die Information in das Arbeitsgedächtnis transferiert, andernfalls verfällt die Information und wird vergessen (Atkinson und Shiffrin, 1968).

Atkinson und Shiffrin sahen das Kurzzeitgedächtnis als einheitlichen Zwischenspeicherplatz des Gedächtnisses von begrenzter Kapazität und Dauer. Etwa fünf Informationseinheiten (kurze Wörter, Zahlen, etc.), sogenannte *Chunks*, können über 18 bis 20 Sekunden bestehen, bis sie entweder weiterverarbeitet oder gelöscht werden (Cowan, 2008).

Heute wird das Kurzzeitgedächtnis häufig synonym mit einem weiter gefassten Konzept, dem Arbeitsgedächtnis, verwendet (Cowan, 2008). Zum passiven Informationsspeicher wird hier die Fähigkeit hinzugezählt, Information aktiv zu verändern und umzugestalten. Daneben können im Arbeitsgedächtnis neue Informationen mit alten Informationen aus dem Langzeitgedächtnis abgeglichen und verknüpft werden.

Dazu wird neben den grundlegenden Gedächtnisspeichern von einer zentralen Steuerungseinheit zur Veränderung der Gedächtnisinhalte in der Gedächtnisstruktur ausgegangen. Ein Kernbestandteil dieser zentralen Steuerung ist Aufmerksamkeit, die dazu benötigt wird, die Inhalte gezielt zu verändern. Tatsächlich zeigen Tests, die parallel zum Kurzzeitgedächtnis die Aufmerksamkeitskomponente testen, eine bessere Korrelation zur kognitiven Fitness als reine Tests des Kurzzeitgedächtnisses (Cowan, 2008). Die Leistung des Arbeitsgedächtnisses nimmt mit dem Alter ab. Ältere Leute können weniger (Gilchrist et al., 2008) und kleinere Chunks wiedergeben als jüngere Personen (Naveh-Benjamin et al., 2007).

Auf genetischer Ebene zeigen genomweite Genstudien zum Arbeitsgedächtnis, dass alle signifikant beteiligten Gene an der Bildung von Ionenkanälen oder an der dopaminergen Transmission beteiligt sind und direkt oder indirekt auf das Dopaminlevel im präfrontalen Kortex Einfluss haben (Knowles et al., 2014). Diese Befunde sind kongruent mit Tiermodellen, die die Rolle der dynamischen Netzwerkverbindung hervorheben, die durch dopaminerge Signale im dorsolateralen PCF vermittelt werden (Knowles et al., 2014).

Das Langzeitgedächtnis ist ein großer Wissensspeicher und eine Aufnahme vorangegangener Ereignisse (Cowan, 2008). Es bezieht sich auf die Erinnerungen, die abrufbar sind, wenn die gemerkte Information nicht länger den gegenwärtigen Gedankengang beansprucht (Jeneson und Squire, 2012). Das

Langzeitgedächtnis lässt sich in das deklarative (explizite) Gedächtnis und eine Sammlung nicht-deklarativer Gedächtnisformen unterscheiden, darunter Gewohnheiten, Fertigkeiten und einfache Formen der Konditionierung. Dieses Gedächtnissystem beruht in unterschiedlichem Maße auf dem Hippokampus und damit verbundenen Strukturen wie dem Striatum, dem Kleinhirn und der Großhirnrinde (Squire und Zola-Morgan, 2015). Das Langzeitgedächtnis scheint einen unbegrenzten Wissensspeicher darzustellen. Vergessen findet dabei weniger durch Informationsverlust als vielmehr durch löschenden oder überschreibenden Einfluss von konkurrierenden früher oder später gebildeten Gedächtnisinhalten zu sein (Markowitsch, 2009). Üben ist förderlich für die Überführung und das Bewahren von Informationen, zum Beispiel durch bewusstes Abrufen und Überdenken der Informationen im Arbeitsgedächtnis. Die Verankerung im Gedächtnis nimmt mit der Anzahl an Verknüpfungen mit anderen Inhalten und dem emotionalen Gewicht zu.

1.3.4 Gedächtnisdefizite bei Schizophrenie

Defizite finden sich bei Patienten mit Schizophrenie bei einer Reihe kognitiver Funktionen. Unter anderem sind das Arbeitsgedächtnis, das Langzeitgedächtnis und die Aufmerksamkeit betroffen (Mesholam-Gately et al., 2009, Forbes et al., 2009). In Meta-Analysen beträgt die Effektgröße bis zu einer Standardabweichung (Heinrichs und Zakzanis, 1998).

In Studien mit gesunden Versuchsteilnehmern zeigte sich eine unterschiedliche Gedächtnisleistung zwischen Männern und Frauen. Frauen schnitten besser bei verbalem Lernen und verbaler Erinnerung ab als Männer (Munro et al., 2012). Gleiches galt in Studien für Patienten mit Schizophrenie – wenn auch auf global reduziertem Niveau (Bozikas et al., 2010).

Möglicherweise spielen Aufmerksamkeitsdefizite eine entscheidende Rolle für die Einschränkungen des Gedächtnisses. Ein den Gedächtnisdefiziten gemeinsamer Mechanismus ist eine fehlende proaktive Repräsentation von Zielen im Arbeitsgedächtnis, die eine Voraussetzung für ein gerichtetes Verhalten darstellt. Diese fehlende aktive Steuerung wird als Ausdruck der Funktionseinschränkungen gesehen, die den dorsolateralen PFC, damit verbundenen Hirnregionen wie Großhirnrinde und Striatum und Neurotransmittersysteme wie Dopamin, GABA und Glutamat betreffen (Barch et al., 2009, Lesh et al., 2011, Edwards et al.,

2010). Dabei hängt die Funktion des Gedächtnisses zu großen Teilen von der Aufmerksamkeitssteuerung ab.

1.4 Dopamin-Rezeptoren

Die Dopamin-Rezeptoren sind die Empfangseinheit für Signale durch den Neurotransmitter Dopamin. Sie sitzen auf der Zellmembran und leiten eingehende Signale über GTP-bindende Proteine (G-Proteine) in das Zellinnere weiter, weshalb sie der Familie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren zugeordnet sind. Die physiologische Wirkung des Dopamins wird durch fünf verwandte Rezeptortypen, D₁ bis D₅, vermittelt. Anhand ihrer pharmakologischen Ähnlichkeiten werden zwei Rezeptor-Klassen unterschieden:

(1) D₁-Klasse Rezeptoren (D₁- und D₅-Rezeptoren): Die generell exzitatorische Wirkung auf die Zelle erfolgt durch intrazelluläre Signalübermittlung über ein sogenanntes stimulierendes G-Protein. Dadurch wiederum aktivierte intrazelluläre Proteine führen zu einer Verstärkung des Signals. Die D₁-Klasse Rezeptoren finden sich vorwiegend im PFC (Takahashi et al., 2012).

(2) D₂-Klasse Rezeptoren (D₂-, D₃- und D₄-Rezeptoren): Die meist inhibitorische Wirkung auf die Zelle erfolgt über ein inhibitorisches G-Protein. Die dadurch hervorgerufene Stabilisierung der Zelle erschwert eine Signalweiterleitung (Vallone et al., 2000). Die D₂-Klasse Rezeptoren werden in verschiedenen Hirnregionen wie dem Striatum und der Substantia nigra exprimiert (Vallone et al., 2000).

1.4.1 Der Dopamin-D₂-Rezeptor

Der D₂-Rezeptor ist ein G-Protein-gekoppelter Rezeptor, dessen Aminosäuresequenz aus 443 Basenpaaren (bp) lange bekannt ist, dessen Kristallstruktur bis dato jedoch nicht zur Gänze analysiert wurde (Salmas et al., 2015). Der Grund liegt in der Schwierigkeit, in Membranen integrierte Proteine hochauflösend darzustellen (Congreve und Marshall, 2010). Der dem D₂-Rezeptor am nächsten kommende Rezeptor, dessen Kristallstruktur analysiert wurde, ist der beta-2-Adrenozeptor. Dabei zeigt sich eine Übereinstimmung der Aminosäuresequenz von 35 Prozent für die gesamte Struktur, 41 Prozent in

Transmembranregionen und 57 Prozent in der Bindetasche des Proteins (Salmas et al., 2015).

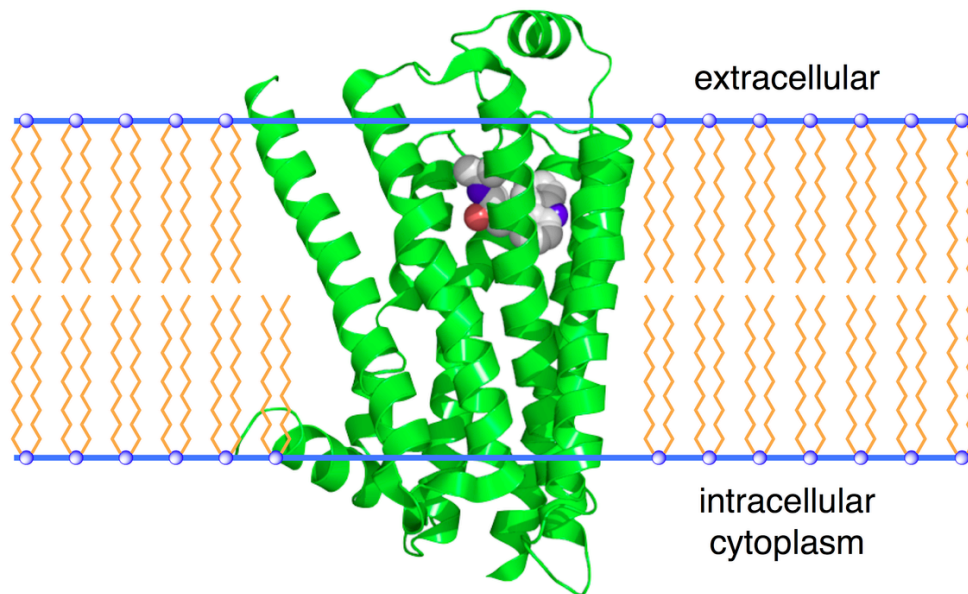


Abbildung 1-6: Struktur des mit dem Dopamin D_2 -Rezeptor verwandten beta-2-Adrenozeptors. Der beta-2-Adrenozeptor ist in Proteinstruktur dargestellt, ein gebundener Antagonist (Carazolol) in der Bindetasche des Proteins ist ebenfalls dargestellt. Die Phospholipid-Doppelschicht der Zellmembran wird als verbundene Kreise (Phosphatgruppen) und gezackte Linien (Fettsäurereste) dargestellt (Bohog 2007).

Eine graphische Darstellung der Struktur des mit dem D_2 -Rezeptor verwandten beta-2-Adrenozeptors zeigt Abbildung 1-6. Die Struktur des D_2 -Rezeptors enthält einen relativ kurzen N-terminalen extrazellulären Abschnitt (N) und sieben die Zellmembran durchspannende alpha-helikale Domänen (TM1-7). Diese sieben Domänen, die bei Sicht auf den Rezeptor von der extrazellulären Seite aus entgegen dem Uhrzeigersinn angeordnet sind, können verschiedene dreidimensionale Anordnungen (Konformationen) einnehmen. Die Transmembrandomänen werden durch drei extrazelluläre Schleifen (nicht markiert) und drei intrazelluläre Schleifen (IC 1-3) miteinander verbunden. Der C-terminale Abschnitt liegt intrazellulär und stellt das Ende des Proteins dar (C). Vereinfacht gesprochen, binden Dopamin und andere niedermolekulare Neurotransmitter an die nach extrazellulär gerichteten Abschnitte der TMs, während das C-terminale Ende und die drei intrazellulären Schleifen die Kontaktstellen für weiterleitende G-Proteine und andere mit dem Rezeptor interagierender Proteine darstellen (Neve, 2005). Die extrazellulären Schleifen haben – möglicherweise mit Ausnahme der zweiten extrazellulären Schleife

zwischen TM4 und TM5 – vermutlich keinen direkten Anteil an der Signalweiterleitung (Shi und Javitch, 2004).

Dimerisierung

Studien zeigen, dass der D₂-Rezeptor aus zwei oder mehr Monomeren bestehen kann, die sowohl in homo- als auch in heterooligomerer Verbindung vorliegen können. Integraler Bestandteil der Dimerisierung ist dabei wohl der extrazelluläre Anteil von TM4 (Guo et al., 2005).

Die inhibitorische Aktivität des D₂ / D₂-Homodimers ist dabei im Vergleich zur monomeren Aktivität verstärkt (Guo et al., 2005). Einige Studienergebnisse lassen vermuten, dass das Vorliegen von Dimeren der funktionelle Normalzustand des D₂-Rezeptor im menschlichen Gewebe darstellt (Lee et al., 2000).

In der Literatur finden sich einige Beispiele für Heterodimere, die sich aus dem D₂-Rezeptor und einem anderen Rezeptor zusammensetzten. Studien fanden Belege für den Dopamin D₃- und D₅-Rezeptor, dem Adenosin A_{2A}-Rezeptor (Beggiato et al., 2014), dem Serotonin 5-HT_{2A}-Rezeptor (Albizu et al., 2011) und dem Neurotensin NTS₁-Rezeptor (Ferraro et al., 2014). Die Existenz des Dopamin D₁ / D₂-Heterodimer wird postuliert (Rashid et al., 2007), gilt jedoch als umstritten (Frederick et al., 2015). Für die zukünftige Forschung besonders interessant dürfte sich das Verhalten gegensätzlicher Heterodimere darstellen, bei denen ein Monomer aktivierende und das zweite Monomer inhibierende Funktion hat. Das Verhalten solcher Heterodimere ist bislang nicht geklärt.

Aktivierung und Signaltransduktion des D₂-Rezeptors

Es wird davon ausgegangen, dass der D₂-Rezeptor permanent zwischen der aktiven und inaktiven Konformation pendelt und sich dieses Gleichgewicht in Anwesenheit aktivierender Substanzen (Agonist) in Richtung der aktiven Konformation bzw. in Anwesenheit hemmender Substanzen (Antagonist) in Richtung der inaktiven Konformation verschiebt (Guo et al., 2005).

Der D₂-Rezeptor weist an der extrazellulären Seite eine von zwischen TM3, TM5 und TM6 gebildete Bindungstasche auf, mit der das Dopamin eine elektrostatische Wechselwirkung eingeht (Neve, 2005). Das Kernstück der Signalweiterleitung ist die dadurch hervorgerufene Konformationsänderung der TMs. Die dadurch verursachte Änderung der dreidimensionalen Struktur führt vermutlich zu einer

Freilegung verdeckter Proteinabschnitte auf den IC1-3 und dem C-Terminus, die die Aktivierung nachgeschalteter Signalwege erlaubt.

Der bestuntersuchte Signalweg besteht in der Aktivierung heterotrimerer G-Proteine, die aus drei Untereinheiten, $G\alpha$, $G\beta$ und $G\gamma$, bestehen. Die $G\alpha$ -Untereinheit ist im inaktiven Zustand über Guanosindiphosphat (GDP) an den D_2 -Rezeptor gekoppelt und gleichzeitig mit den $G\beta$ und $G\gamma$ Untereinheiten verbunden, die unter physiologischen Bedingungen als untrennbares Dimer ($G\beta\gamma$) auftreten. Bei Aktivierung des D_2 -Rezeptors wird das GDP der $G\alpha$ -Untereinheit durch Guanosintriphosphat (GTP) ersetzt (Bromberg et al., 2008). Die dadurch bewirkte Konformationsänderung von $G\alpha$ führt zu Dissoziation von $G\beta\gamma$ und zur Abspaltung von α vom Rezeptor, wobei beide Untereinheiten nachgeschaltete Signalmoleküle (Effektoren) aktivieren. Die Inaktivierung erfolgt automatisch durch die intrinsische Hydrolysefähigkeit von $G\alpha$, bei der durch Abspaltung einer Phosphatgruppe GTP zu GDP rückgewandelt wird (siehe Abbildung 1-7).

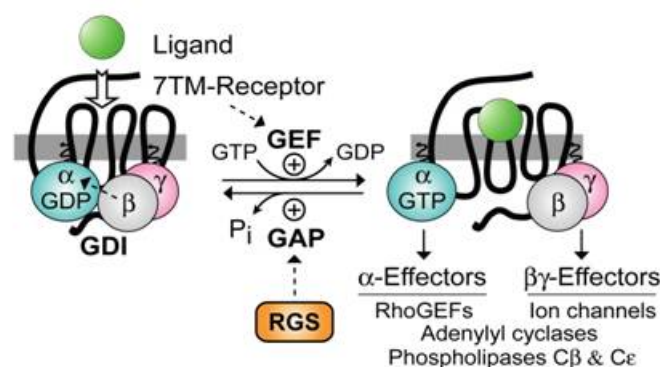


Abbildung 1-7: Standard-Mechanismus heterotrimerer G-Proteine Durch Anlagerung eines Liganden (Ligand) an den Rezeptor (7TM-Rezeptor) wird GDP durch GTP ersetzt, was durch Dissoziation der Untereinheiten α und $\beta\gamma$ zur Aktivierung weiterer Signalmoleküle (α -Effectors, $\beta\gamma$ -Effectors) führt. Die Inaktivierung erfolgt durch Autolyse des GTP durch $G\alpha$. Regulatoren und Aktivator der G-Protein-vermittelten Signaltransduktion (RGS) modifizieren die Grundaktivität (Siderovski DP; Willard FS. The GAPs, 2005).

Zwei Proteinfamilien, die Regulatoren der G-Protein-vermittelten Signaltransduktion (Regulator of G-protein signaling, RGS) und die Aktivatorn Regulatoren der G-Protein-vermittelten Signaltransduktion (AGS), modifizieren die Aktivität der G-Proteine stark. RGS-Proteine verstärken die intrinsische Fähigkeit zur Hydrolyse von $G\alpha$ und stellen somit eine essentielle Rolle in der Inaktivierung und Beendigung der Signalweiterleitung dar (Ishii und Kurachi, 2003). AGS-Proteine aktivieren G-Proteine auf zwei verschiedene Weisen: (1) einige AGS-Proteine fördern den Austausch von GDP durch GTP, während (2) andere die

Wiedervereinigung des an GDP-gebundenen $G\alpha$ mit Rezeptor und $G\beta\gamma$ verhindern (Lanier, 2004). Es gibt über 20 verschiedene $G\alpha$ -Untereinheiten, die eine aktivierende Wirkung ($G\alpha_s$), eine hemmende Wirkung ($G\alpha_i$) und noch ungenau verstandene Wirkungen ($G\alpha_o$) vermitteln (Bromberg et al., 2008). Da sich die Signalwege für $G\alpha_i$ und $G\alpha_o$ nur schwer differenzieren lassen, werden sie gemeinsam als $G\alpha_i / o$ -Protein zusammengefasst. Sowohl die D_{2S} Isoform (Nickolls und Strange, 2003) als auch für D_{2L} Isoform (Gazi et al., 2003) vermitteln ihre Effekte über diese $G\alpha_i / o$ -Proteine. $G\alpha_i$ wird in allen Geweben exprimiert und inhibiert verschiedene Adenylyl Cyclasen (Sunahara et al., 1996). $G\alpha_o$ wird dagegen überwiegend in Nervenzellen in Gehirn und Rückenmark exprimiert und reguliert zahlreiche zelluläre Prozesse wie die Hemmung spannungsabhängiger Kalziumkanäle, die Aktivierung von Kaliumkanälen und die Aktivierung der Proteinkinase C (Bromberg et al., 2008).

Ein weiterer, nicht G-Protein-vermittelter Signalweg betrifft insbesondere die D_{2L} Isoform und wird über die dritte intrazelluläre Schleife (IC3) vermittelt. Diese interagiert mit einer Reihe an Botenstoffen (NR2B, Calmodulin, Calcium / Calmodulin-abhängige Kinase II, Par-4, DAT, NSF und Spinophilin) und vermittelt vermutlich synaptische Plastizität in Zusammenhang mit Gedächtnis und emotionalem Verhalten (Fukunaga und Shioda, 2012).

1.4.1.1 Der D_2 -Rezeptor in der Schizophrenie

Bei vielen pathologischen Erkrankungen wird eine Beteiligung des D_2 -Rezeptors postuliert. Als wissenschaftlich belegt gilt der Beitrag an der Pathophysiologie der Schizophrenie (Murray et al., 2008). Aber auch mit anderen neurologischen Störungen wie Alkoholabhängigkeit, Drogenmissbrauch, Posttraumatische Belastungsstörung, Bewegungsstörungen und Migräne wird er in Verbindung gebracht (Noble, 2003). Insbesondere an der Verarbeitung von Verstärkungs- und Belohnungsmechanismen ist er essentiell beteiligt. In mehreren Studien wurde gezeigt, dass sich das andere Ansprechen auf natürliche Belohnungsreize oder Drogen durch medikamentöse bzw. genetische Änderung der Rezeptorfunktion stark verändern lässt (Koob und Volkow, 2010).

Eine zentrale Rolle kommt dem Rezeptor in der Pathophysiologie der Schizophrenie zu (siehe Kapitel 1.1.7). Dabei kommt es zur pathologischen D_2 -Rezeptor Überfunktion im Striatum, für die mehrere Erklärungsmodelle existieren.

In Tiermodellen wurde gezeigt, dass viele genetische und nicht-genetische Risikofaktoren für Schizophrenie mit einer erhöhten Dichte von D₂-Rezeptoren und einer damit verbundenen Dopamin-Überempfindlichkeit einhergehen (Seeman, 2010). Denkbar wäre, dass es auf Grundlage eines durch Rezeptormutation, Traumata oder Drogen ausgelösten striatalen Schadens zu (1) einem verstärkten Abbau von hemmenden D₂-Rezeptoren an präsynaptischen Neuronen, (2) einer Aktivierung der Dopamin-Freisetzung, (3) einer veränderten Zahl an D₂-Rezeptoren, oder (4) einer erhöhten Sensitivität der Rezeptoren auf Dopamin durch vermehrte Expression von D_{2High}-Rezeptoren kommt (Seeman und Seeman, 2014).

1.4.1.2 D₂-Rezeptoren und Gedächtnis

Der präfrontale Kortex ist in die dauerhafte Speicherung von Erinnerungen involviert und ist an der Steuerung von Verhalten, Denken und Emotionen beteiligt. Dabei werden Teile des Arbeitsgedächtnisses, der Handlungsplanung und der Aufmerksamkeit von dopaminergen Einflüssen reguliert, die über die mesokortikale Bahn vom Mittelhirn in den PFC projiziert werden. Ebenso könnte Dopamin eine Rolle in der Pathologie der mit Schizophrenie assoziierten kognitiven Defizite spielen (Seamans und Yang, 2004). Dabei sind sowohl D₁- als auch D₂-Rezeptoren im PFC vorhanden, wenngleich D₁-Rezeptoren weitaus häufiger vorkommen (Gaspar et al., 1995).

Der dopaminerge Einfluss im PCF auf Gedächtnis ist in der Literatur hauptsächlich mit dem D₁-Rezeptor in Verbindung gebracht worden (Xu et al., 2009). Dabei zeigte sich, dass durch D₁-Rezeptor-Agonisten die Aufrechterhaltung von Engrammen durch LTP gefördert wird. Bei Knock-out Mäusen, denen der D₁-Rezeptor fehlte, unterblieb diese Wirkung (Huang et al., 2004). In einer weiteren Studie konnten im Tierversuch Defizite im Arbeitsgedächtnis durch Stimulation von D₁-Rezeptoren im PFC ausgeglichen werden (Mehta und Riedel, 2006).

Zunehmend wird auch die Rolle des D₂-Rezeptors erkannt. So zeigte eine Studie, dass eine geringe Dopamindosis im PFC eine von NMDA-Rezeptor unabhängige Form der Langzeit-Depression in eine Langzeit-Potenzierung umwandeln konnte, allerdings nur mit Hilfe von sowohl D₁- als auch D₂-Rezeptoren (Matsuda et al., 2006). In Tierversuchen wurde gezeigt, dass die Gabe geringer Dosen von D₂-

Rezeptor Agonisten wie Bromocriptin oder Pergolin die Leistung des Arbeitsgedächtnis steigern konnte (Mehta und Riedel, 2006).

Neben einer Beeinträchtigung des Gedächtnisses durch Dopaminunteraktivität im PFC kann auch eine Dopaminüberaktivität zu den gleichen Effekten führen. In einer Studie zeigte sich, dass ein Dopaminüberschuss im PFC die Speicherung von Engrammen verhindern kann und Gedächtnisfunktionen beeinträchtigt. Dieser Mechanismus wird über D₂-Rezeptoren vermittelt, die dann bevorzugt an den Second Messenger Proteinphosphatase 1 koppeln und dadurch die Bildung von Langzeit-Potentialen verhindern (Xu et al., 2009).

Neben der Aktivität des PCF könnten auch die D₂-Rezeptoren im Striatum zu Gedächtnisdefiziten beitragen. So war bei schizophrenen Patienten eine Verringerung der striatalen D₂-Rezeptoren mit schlechterer Aufmerksamkeit verbunden, wenn diese mit einer zeitlichen Komponente verbunden war (Yang et al., 2004). Daneben spielte die Neuroleptika-Dosierung eine wichtige Rolle zwischen den kognitiven Aufgaben und der striatalen D₂-Rezeptordichte (Cropley et al., 2006)

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Dopamin eine wichtige Rolle im Gedächtnisprozess spielt. Das Dopamin wirkt dabei wohl weder rein exzitatorisch, noch rein inhibitorisch, sondern wirkt komplex auf die Gedächtnisleistung ein. Möglicherweise hilft Dopamin dabei, die Menge an Information zu erweitern oder zu begrenzen, die in den Pufferspeichern des Arbeitsgedächtnisses enthalten ist (Seamans und Yang, 2004).

1.4.2 Das Dopamin-D₂-Rezeptorgen DRD2

Das DRD2-Gen stellt ein logisches Kandidatengen für genetische Untersuchungen in der Schizophrenie dar (Bertolino et al., 2009).

Lokalisation und Aufbau im Genom

Das den D₂-Rezeptor codierende Gen, DRD2, ist beim Menschen auf Chromosom 11 an Position q22-q23 lokalisiert (Grandy et al., 1989). Es hat eine Länge von knapp 66 kb und besteht aus acht Exons, wovon sieben die Aminosäuresequenz codieren (Gingrich und Caron, 1993).

Isoformen

Durch alternatives Spleißen ergeben sich zwei Transkriptionsvarianten, aus denen sich zwei Isoformen des D₂ Rezeptors ergeben, *D₂-long* / D_{2L} und *D₂-short* / D_{2S} (Giros et al., 1989). Die Isoform D_{2S} unterscheidet sich von der standardmäßigen Variante D_{2L} durch das Ausschneiden einer Basensequenz in Exon sechs, die auf Proteinebene den Verlust von 29 Aminosäuren in der dritten intrazellulären Schleife zur Folge hat (Vallone et al., 2000). Diese Änderung geht mit Unterschieden der physiologischen, funktionellen und pharmakologischen Eigenschaften einher (Beaulieu et al., 2015). So wird D_{2S} vorwiegend präsynaptisch exprimiert und fungiert als Autorezeptor, der über die Vermittlung von negativem Feedback die Freisetzung von Dopamin inhibiert. Die Isoform D_{2L} wird postsynaptisch exprimiert, ist Ziel von Dopamin-Antagonisten wie Haloperidol und ist an der Signalweiterleitung beteiligt (Usiello et al., 2000, De Mei et al., 2009). Es wurde eine dritte Isoform beschrieben, die mit niedriger Prävalenz vorkommt (*D₂-longer*). Diese entsteht durch frühere mRNA-Transkription von Exon sechs, wodurch sechs Basen des vorhergehenden Introns in die mRNA mit aufgenommen werden. Es ist unklar, ob es sich hierbei um eine tatsächliche Isoform oder um einen Fehler beim Spleißen handelt (Seeman et al., 2000).

Befunde zu SNPs im DRD2 Gen

Entsprechend seiner primären Beteiligung an der neuralen Signalweiterleitung wird das DRD2 Genprodukt insbesondere in der Hypophyse und im ZNS exprimiert (Kidd et al., 1998). Außerhalb des ZNS werden D₂-Rezeptoren in geringerer Menge in Niere, Nebenniere, Ganglien des Sympathikus, Gastrointestinaltrakt, Blutgefäßen und Herzen exprimiert (Beaulieu und Gainetdinov, 2011).

1.4.2.1 Das DRD2-Gen und Schizophrenie

Aufgrund der zentralen Rolle des D₂-Rezeptors bei der Pathophysiologie der Schizophrenie galt das DRD2 Gen als aussichtsreiches Kandidatengen. Eine Untersuchung zeigte eine Korrelation des Levels an DRD2 mRNA in Leukozyten aus der peripheren Blutbahn und der Stärke der Positivsymptomatik (Liu et al., 2013). Es sind umfangreiche Untersuchungen zu Polymorphismen des Gens

gemacht worden. Die bestuntersuchten SNPs in Assoziation mit dem DRD2 Gen sind rs1801028, rs6277 und rs1800497 (Mi et al., 2011).

Für den SNP rs1801028 (Ser311Cys, C > G) finden sich Berichte, die einen Zusammenhang mit Schizophrenie unterstützen (Itokawa et al., 2010, Glatt et al., 2003, Liu et al., 2012, Yao et al., 2015b, Glatt und Jonsson, 2006) und Publikationen, die diesem widersprechen (Goldman et al., 1998). Die Gruppe um Arinami war die Erste, die eine positive Assoziation mit Schizophrenie herstellen konnte (Arinami et al., 1994). Allerdings ließ sich nur in zwei von 23 folgenden Assoziationsstudien dieses Ergebnis replizieren (Glatt und Jonsson, 2006). Mehrere vergleichende Meta-Analysen zeigen einen schwachen aber positiven Einfluss des G-Allels als Risikofaktor für Schizophrenie (Betcheva et al., 2009). Glatt et al. schlossen 2003 in ihre erste Meta-Analyse 24 Fall-Kontroll-Studien mit insgesamt 9106 Teilnehmern ein, die etwa zu gleichen Teilen asiatischer und europäischer Abstammung waren. Sie berichteten von einer signifikanten Assoziation ($OR = 1,43$, $p < 0,001$). Die Ergebnisse waren unabhängig von Geschlecht und Ethnie (Glatt et al., 2003). Eine zeitgleiche Meta-Analyse aus Schweden mit insgesamt 9152 Probanden kaukasischer Abstammung konnte eine Assoziation nur zu dem männlichen Geschlecht herstellen (Jonsson et al., 2003). Die beiden Meta-Analysen unterschieden sich geringfügig in ihrer Zusammensetzung, weshalb Glatt und Jönsson 2006 in einer dritten Meta-Analyse mit 27 eingeschlossenen Studien einen homogenen Überblick über die Studienlage schafften. Dabei fand sich eine dominante Risikoerhöhung für Träger des selteneren G-Allels - im Vergleich zu C / C-Trägern war das Risiko bei C / G- und G / G-Trägern erhöht (Glatt und Jonsson, 2006). Itokaya et al. untersuchten 2010 in einer Meta-Analyse eine Assoziation des Markers mit der japanischen Bevölkerung, wobei sie insgesamt 4691 Probanden einschlossen (Itokawa et al., 2010). Jao et al. untersuchten in einer Meta-Analyse 36 Studien mit insgesamt 18237 Teilnehmern (Yao et al., 2015b). Im dominanten Modell zeigte sich in der Gesamtstichprobe eine Assoziation mit dem G-Allel als Risikofaktor ($OR = 1,22$, $p = 0,016$). In der Subgruppenanalyse war der Effekt nur bei Asiaten signifikant, für Kaukasier zeigte sich keine signifikante Assoziation ($OR = 2,53$, $p = 0,245$).

Für den SNP rs6277 wurden Assoziationen von Populationen in Australien (Lawford et al., 2005), Spanien (Betcheva et al., 2009), Finnland (Hanninen et al., 2006) und Russland (Monakhov et al., 2008) gemeldet. Diese Studien zeigten

übereinstimmend höhere Frequenzen des CC -Genotyps und des C-Allels bei Patienten im Vergleich mit Kontrollen. Dem Genotyp TT wird ein protektiver Effekt zugeschrieben. Eine Metaanalyse, die alle relevanten Studien analysierte, zeigt eine signifikante Risikosteigerung ($OR=1,26$, $p=0,005$) für den SNP rs6277 bei Kaukasiern, aber nicht bei Asiaten (Liu et al., 2014). Gleichwohl gibt es Daten, die Assoziation nicht replizieren konnten (Need et al., 2009b). Duan et al. untersuchten funktionelle Auswirkungen von sechs synonymen Varianten des DRD2 Gens an Mäusen. Dabei war der SNP rs6277 nicht still, sondern veränderte die vorhergesagte Faltung der Boten-RNA (*messenger RNA*, mRNA). Das führte zu einer verminderten mRNA-Stabilität und mRNA-Translation und schwächte die dopaminerge Upregulation in den untersuchten Zellen. In der Studie fand sich zudem ein starkes LD zwischen rs6277 und rs1800497. Möglicherweise tragen beide SNPs additiv oder multiplikativ zum Outcome bei (Duan et al., 2003). Eine in vitro Studie zur Auswirkung synonymer Mutationen auf die Rezeptorfunktion zeigte an Zellen, dass die Dopaminaffinität des T-Allels von rs6277 zweifach niedriger war, als die der (C-Allels) Ser-Wildtypvariante. Zudem wurde die nachgeschaltete cAMP-Produktion nur auf die Hälfte des Ausgangsniveaus reduziert, was auf eine eingeschränkte Rezeptorfunktion hindeutet. Der Grund scheint in einer eingeschränkten Fähigkeit der Rezeptoren zu bestehen, das richtige inhibitorische G_i -Protein zu aktivieren (Cravchik et al., 1996).

Der SNP rs1800497, oder Taq1A Polymorphismus, liegt nicht wie ursprünglich angenommen im DRD2 Gen, sondern im benachbarten ANKK1 Gen. Dieses liegt ca. 10 kb vom 3'-Ende des DRD2 Gens entfernt. Eine aktuelle Meta-Analyse zeigte jedoch keine Assoziation mit Schizophrenie (Yao et al., 2015a).

Eine GWAS zeigte im Jahr 2009 keine Assoziation des SNPs rs6275 mit Schizophrenie (Need et al., 2009b), was sich in einer weiteren Meta-Analyse mit kaukasischen Probanden bestätigte (Liu et al., 2014).

Im Folgenden wird näher auf einzelne Studien eingegangen, die eine Assoziation von Polymorphismen des DRD2 Gens und Schizophrenie untersucht haben.

Asherson et al. 1994

Im Jahr 1994 untersuchten Asherson et al. in einer britischen Fall-Kontroll-Studie 112 männliche Probanden und 64 gesunde Kontrollprobanden. Bei dieser Studie fanden sich keine signifikanten Assoziationen (Asherson et al., 1994).

Arinami et al. 1994

In einer japanischen Fall-Kontroll-Studie mit 156 Patienten und 300 Kontrollprobanden fanden Arinami et al. erstmals eine signifikante Assoziation des Markers rs1801028 (C > G) mit Schizophrenie. In der Fall-Kontroll-Gruppe ließ sich in der Patientengruppe eine höhere Frequenz des Risikoallels G als in der Kontrollgruppe nachweisen (5,4% vs. 1,8%). Einen noch höheren Anteil hatten Patienten mit einem frühen Ausbruch der Schizophrenie (unter 25 Jahren, 9%) und mit weiteren Fällen in der Familie (13,5%). Dabei zeigten Patienten mit dem Risikoallel weniger ausgeprägte Denkstörungen und Negativsymptome (Arinami et al., 1994).

Zhang et al. 2007

Zhang et al. untersuchten 23 SNPs des DRD2 Gens auf ihr Expressionsverhalten. Drei Varianten hatten einen Einfluss auf das Spleißverhalten: rs12364283, rs2283265 und rs1076560. Die C-Allel Variante von SNP rs12364283 (T/C) erhöhte die gesamte Expression von D₂ mRNA ohne dass bislang weiterführende funktionelle Auswirkungen publiziert wurden. Die T-Allel Variante der beiden intronisch gelegenen SNPs rs2283265 (G/T) und rs1076560 (G/T) vermindert die Expressionsrate der Isoform D_{2S} im Vergleich zu D_{2L} in Striatum und präfrontalem Kortex. Minigen-Konstrukte an Zellen legen nahe, dass beide Varianten auch einzeln die Veränderung des Spleiß-Verhältnisses auslösen (Zhang et al., 2007).

Sanders et al. 2008

In einer kaukasischen Fall-Kontroll-Studie untersuchten Sanders et al. 14 Kandidatengene, darunter DRD2, auf eine Assoziation mit Schizophrenie. Dazu wurden 789 SNPs von 1870 amerikanischen und australischen Patienten und 2002 Kontrollpersonen genotypisiert. Dabei wurden 32 SNPs des DRD2 Gens analysiert. Drei SNPs, rs17529477, rs4245147 und rs7131056, waren signifikant ($p < 0,05$). Wurde ein strengeres Signifikanzniveau angelegt, wie es für Studien mit einer hohen Zahl an untersuchten SNPs nötig ist, ließ sich die Signifikanz jedoch weder Experiment- noch Gen-übergreifend statistisch halten. Die Autoren gehen davon aus, dass ein starker Einfluss dieser Gene unwahrscheinlich ist,

wenngleich kleine Effekte nicht ausgeschlossen werden können (Sanders et al., 2008).

Betcheva et al. 2009

In einer bulgarischen Fall-Kontroll-Studie haben Betcheva et al. 2009 insgesamt 225 Patienten mit Schizophrenie bzw. schizoaffektiver Störung und 556 gesunde Kontrollen 202 genotypisiert. Von den vier im DRD2 Gen untersuchten SNPs (rs1800497, rs6277, rs6275, rs1079597) zeigte sich rs6277 signifikant mit Schizophrenie assoziiert. Der SNP rs1800497, auch bekannt als Taq1A Polymorphismus, liegt dabei in der DNA-Sequenz dem DRD2 Gen nachgeschaltet (Betcheva et al., 2009).

Glatt et al. 2009

In einer umfangreichen taiwanischen Familienstudie untersuchten Glatt et al. 616 Familien mit 2048 Teilnehmern, davon 1214 Patienten chinesischer Abstammung (Han Chinesen). Untersucht wurden 24 SNPs im DRD2 Gen, darunter mit Missense-Mutation (rs1110977, rs1800496 und rs1801028) und 21 SNPs mit einer minimalen Allelhäufigkeit von über fünf Prozent. Ein Marker, rs2734837, wurde wegen schlechter Genotypisierungsqualität von der Analyse ausgeschlossen. Eine Haploblock-Analyse ergab vier Haploblöcke, die den Ergebnissen der chinesischen HapMap-Referenzdaten glichen. Es fand sich keine signifikante Assoziation des Markers rs1801028 mit Schizophrenie. Nach multiplen Testen verblieben zwei der vier Haplotypen rs1079727(A)-rs2440390(C)-rs2283265(G) und rs1801028(G)-rs1110977(A)-rs1124492(C)-rs2734841(T) signifikant mit Schizophrenie assoziiert ($p = 0,0051$; $p = 0,0041$). Zwei SNPs (rs2283265 und rs1079727) verblieben ebenfalls signifikant mit Schizophrenie assoziiert ($p = 0,0047$; $p = 0,0023$). Die Odds-Ratio der beiden SNPs betrug 1,1, was auf einen schwachen Effekt hinweist (Glatt et al., 2009).

Ripke et al. 2014

Ripke et al. werteten in einer Metaanalyse die Daten mehrerer genomweiter Assoziationsstudien zu Schizophrenie aus. Es wurden die Daten von insgesamt 36989 Fällen und 113075 Kontrollen in die Studie eingeschlossen. Aus dem

Datenpool wurden 49 Fall-Kontroll-Gruppen nach ethnischer Herkunft gematcht und die Daten mit den Daten einer Gendatenbank (deCODEGenetics) verglichen. Nach Auswertung der Daten bestand eine signifikante Assoziation mit Schizophrenie für 128 SNPs an 108 verschiedenen Genorten, darunter das DRD2-Gen mit dem SNP rs2514218 und weitere an der Neurotransmission beteiligte Gene (Ripke et al., 2014).

Yao et al. 2015

Yao et al werteten die Studiendaten zu drei SNPs des DRD2 Gens, rs1799732 (24 Studien), rs1801028 (36 Studien) und rs1800497 (16 Studien) aus. Für die SNPs rs1799732 und rs1800497 zeigte sich keine Assoziation mit Schizophrenie. Für den SNP rs1801028 zeigte sich eine Assoziation ($p = 0,016$). Träger des Risiko-allels zeigten ein 1,22-fach erhöhtes Risiko eine Schizophrenie zu entwickeln. Eine ethnische Subgruppen-Analyse zeigte, dass der SNP bei Ostasiaten mit Schizophrenie assoziiert war, jedoch nicht bei Kaukasiern, Indern und Sri-Lankern (Yao et al., 2015a).

1.4.2.2 Das DRD2 Gen und Gedächtnisleistung

In der Literatur finden sich bislang nur wenige Untersuchungen zu Polymorphismen des DRD2 Gens und Gedächtnisleistungen. So wird die seltenere Variante der SNPs rs1076560 und rs2283265 (Kaalund et al., 2014, Zhang et al., 2007) sowie des SNPs rs1079727 (Kaalund et al., 2014) in Zusammenhang mit schlechterem Abschneiden bei Arbeitsgedächtnis und Aufmerksamkeit gebracht.

Kognitionsstudien zum SNP rs6277 haben gezeigt, dass Träger der selteneren Variante schlechter bei neurokognitiven Tests abschnitten, die das Arbeitsgedächtnis untersuchten (Xu et al., 2007, Rodriguez-Jimenez et al., 2006). Im Folgenden wird näher auf einzelne Studien eingegangen, die eine Assoziation von Polymorphismen des DRD2 Gens und Gedächtnisleistung untersucht haben.

Xu et al. 2007

Xu et al. untersuchten den SNP rs6277 auf Assoziation mit Gedächtnisleistung. Im Rahmen der Studie wurden 188 gesunde Probanden kaukasischer Abstammung im Alter von 18 bis 55 Jahren genotypisiert und vier verschiedenen

Gedächtnistests unterzogen. Während kein Zusammenhang mit dem allgemeinen Gedächtnis bestand, fand sich eine Assoziation mit dem Arbeitsgedächtnis im *word serial position test* (WSPT). Dabei zeigte sich in diesem Test, dass Träger des CC-Genotyps am schlechtesten und Träger des als protektiv geltenden T-Allels besser abschnitten (Xu et al., 2007).

Zhang et al. 2007

In oben genannter Studie untersuchten Zhang et al. die Auswirkung des veränderten Splice-Verhaltens der SNPs rs2283265 (G/T) und rs1076506 (G/T) in Bezug auf das kognitive Outcome. T-Allelträger zeigten während kognitiver Aufgaben eine verminderte Leistung des Arbeitsgedächtnisses und der Aufmerksamkeit. Bildgebend zeigten diese Probanden im fMRT eine höhere Aktivität in mehreren Hirnregionen, darunter im Striatum und im präfrontalen Kortex, was von den Autoren als ein erhöhter Energieverbrauch für vergleichbare Leistung gewertet wurde (Zhang et al., 2007).

Kaalund et al. 2014

Kaalund et al. untersuchten in ihrer Studie das Expressionsverhalten der drei DRD2 Spleißvarianten D_{2S} , D_{2L} und $D_{2Longer}$ in drei Hirnarealen (DLPFC, Hippokampus und Striatum) und Assoziationen mit 278 SNPs im Bereich des DRD2 und DRD1 Gens. Dazu entnahmen sie postmortem Gewebeproben aus den Gehirnantteilen von bis zu 244 Gesunden, 176 schizophrenen Patienten und 199 Personen mit Depression oder bipolarer Störung. Die Expression von D_{2S} mRNA und D_{2S} / D_{2L} -Rate zeigte sich im DLPFC von Patienten im Vergleich zu Gesunden signifikant erhöht ($p < 0,0001$), wohingegen D_{2L} , $D_{2Longer}$ und DRD1 erhöht waren ($p < 0,0001$). In Gegensatz dazu zeigten Patienten mit affektiven Störungen ein entgegengesetztes Muster: verminderte Expression von D_{2S} (Depression $p < 0,0001$) und erhöhte Expression von D_{2L} und DRD1 (Bipolare Störung, $p < 0,0001$). Darüber hinaus sagten die mit Schizophrenie assoziierten Risikoallele rs1079727, rs1076560 und rs2283265 bei gesunden Kontrollpersonen eine erhöhte D_{2S} / D_{2L} -Rate vorher ($p < 0,05$) (Kaalund et al., 2014).

Söderqvist et al. 2014

Söderqvist et al. untersuchten 256 Kinder und Jugendliche im Alter von 7 bis 19 Jahren auf eine Assoziation zwischen genetischen Polymorphismen und dem Ansprechen auf ein Training zur Verbesserung des Arbeitsgedächtnisses. Dazu wurden 13 SNPs in acht Kandidatengenen untersucht, darunter das DRD2 Gen. Zwei SNPs, rs2283265 und rs1800497 waren signifikant mit Verbesserungen beim Arbeitsgedächtnis assoziiert ($p < 0,003$ und $p < 0,004$). Dabei zeigten in beiden Fällen Träger des A-Allels ein besseres Abschneiden. Beide SNPs befanden sich in einem moderaten LD ($D' = 0,76$). Die Autoren folgern, dass Dopamin-D₂-Rezeptoren als zentraler Faktor bei kognitiver Plastizität fungiert (Soderqvist et al., 2014).

Vercammen et al. 2014

Eine Fall-Kontroll-Studie zur Assoziation zweier Polymorphismen mit präfrontaler Hirnaktivität an 43 gesunden Erwachsenen und 27 Schizophreniepatienten zeigte ein signifikantes Ergebnis. Die beiden Polymorphismen lagen im DRD2 Gen (rs2283265) und im COMT Gen (rs4680). SPECT- und PET-Untersuchungen zeigten bei gesunden Probanden eine Aktivierung von fünf Regionen im Frontalhirn während kognitiver Tests. Bei schizophrenen Patienten ließ sich ein relativer Aktivitätsabfall feststellen ($p < 0,021$). Auch zeigten gesunde Probanden, die beide Risiko-Allele trugen, eine stärkere Reduktion der Frontalhirnaktivität als Teilnehmer mit keinem oder einem Risikoallel. Diese lineare Beziehung von Risikoallel-Last ($p < 0,016$) und Frontalhirnaktivität lässt eine additive Wirkung der beiden Risiko-Allele vermuten. Diese Beziehung ließ sich für Patienten unter Neuroleptika-Therapie nicht feststellen. Stattdessen ergab sich eine negative Assoziation zwischen der täglichen Dosis und der Aktivierung des rechten dorsolateralen PFC, bei der die Aktivitätsunterschiede mit zunehmender Neuroleptika-Dosis verblassen ($p = 0,033$). Die Daten liefern zum einen Hinweis auf eine gemeinsame Wirkung von funktionell verwandten Genen bei der Ausprägung des Phänotyps Gedächtnisdefizit bzw. Schizophrenie und zum anderen einen Hinweis darauf, dass Neuroleptika kognitive Defizite verschleiern könnten (Vercammen et al., 2014).

1.5 Fragestellung

Ein starker genetischer Einfluss auf Schizophrenie ist in der Forschung unbestritten. In Anbetracht der hohen Relevanz, die Schizophrenie als Krankheit in der Gesellschaft hat, ist eine Erhellung der genetischen und pathophysiologischen Grundlagen essentiell. Aufgrund der polygenen Erbanlage ist der Einfluss der krankheitsassoziierten Gene überwiegend gering, sodass die Effekte nur mit hoher Studienpower zu entdecken sind.

Das DRD2-Gen ist bereits früh mit Schizophrenie in Verbindung gebracht worden und spielt eine wichtige Rolle bei der Krankheitspathologie.

Ziel dieser genetischen Assoziationsstudie war es, festzustellen, ob 21 SNPs des DRD2 Gens kausal mit Schizophrenie assoziiert sind. Dazu wurden die Genotypen von 936 Patienten und 2336 gesunden Kontrollen mittels iPLEX und MALDI-TOF bestimmt. Als Zielparameter wurde bei der Gesamtstichprobe der Phänotyp (an Schizophrenie erkrankt vs. gesund) ausgewählt. Der in einer genomweiten Assoziationsstudie mit Schizophrenie assoziierte SNP - rs2514218 - wurde in dieser Studie nicht untersucht.

Einer Teilstichprobe von 358 Patienten und 526 Kontrollen wurde zusätzlich auf Assoziation mit dem intermediären (Endo-)Phänotyp Gedächtnisleistung untersucht. Die Gedächtnisleistung wurde mit dem Wechsler Gedächtnistest – revidierte Fassung (dt.) abgebildet. Zudem wurden die Kopplung der SNPs auf dem Gen untersucht, und eine Assoziation der Haplotypen mit der Gedächtnisleistung überprüft.

2 Material und Methoden

2.1 Vorbedingungen und Studiendesign

Die Studie wurde mit Genehmigung der Ethikkommission durchgeführt. Die Daten wurden gemäß Datenschutzrichtlinie anonymisiert und vertraulich behandelt. Die Gespräche und Untersuchungen fanden in den Räumen der Klinik- und Poliklinik für Psychiatrie der LMU München und in Einzelfällen auch bei Patienten statt. Die Studie fand mit Genehmigung der Ethikkommission statt.

Die Studie war als Fall-Kontroll-Studie konzipiert. Beide Gruppen wurden genotypisiert und auf Assoziation zu Schizophrenie getestet. Bei einer Untergruppe wurden Patienten und Kontrollen gemeinsam ausgewertet und auf Assoziation mit dem Endophänotyp Gedächtnisleistung getestet.

2.2 Datengewinnung

Die Ergebnisse stammen aus dem Datenpool der Arbeitsgruppe für Molekulare und Klinische Neurobiologie um Prof. Dr. med D. Rujescu. Zur höheren Validität der Studiendaten wurden die Aufgaben innerhalb der Arbeitsgruppe aufgeteilt.

Das eigene Aufgabengebiet umfasste die Mitarbeit in der Arbeitsgruppe, welche sechs Monate in Vollzeit betrug. Der Schwerpunkt lag auf der Sichtung, Überprüfung und Digitalisierung der Daten aller gut 3000 Probanden. Bestandteil war die Rekrutierung neuer Probanden, die Asservation der Blutproben, die Durchführung von klinischen Interviews und ein ca. zweistündiger Kognitionstest. Neben der unter 2.3.3 beschriebenen ausführlichen Anamnese und dem unter 2.3.4 beschriebenen Wechsler Gedächtnistest - Revidierte Fassung (WMS-R, Härting et al. 2000) wurden der Zahlen-Verbindungs-Test (ZVT) von Oswald und Roth (Oswald & Roth 1987), der 3-7 Continuous Performance Test (Nuechterlein & Asarnow 2004), der Wisconsin Card Sorting Test (WCST, Heaton 2003), der Regensburger Wortflüssigkeitstest (RWT, Aschenbrenner et al. 2000), der n-back (Coppola 1999), der Verbale Lerntest und der Nonverbale Lerntest (VLT / NVLT, Sturm & Willmes 1999) und der Verbale Lern- und Merkfähigkeitstest (VLMT, Helmstaedter et al. 2001) verwendet.

Die im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Daten flossen in einen gemeinsamen Pool, der die Daten aller Mitarbeiter der Arbeitsgruppe enthielt. Dank dieser Vorgehensweise konnte eine genügend große Anzahl an Studienprobanden erreicht und somit aussagekräftige Daten für die Studie generiert werden.

2.3 Stichprobe

Alle Teilnehmer stammten aus dem Großraum München und wurden vor Beginn über Art, Ablauf und Risiken der Studie aufgeklärt. Alle Angaben geschahen freiwillig und mit Einverständnis der Probanden. Eine Untergruppe der Fall-Kontroll-Stichprobe wurde auf Gedächtnisleistung hin geprüft.

2.3.1 Fall-Kontroll-Assoziationsstudie

Es wurden 3272 Probanden in die Studie eingeschlossen. Die Probanden (936 Patienten mit Schizophrenie, 2336 Kontrollen) wurden auf ihre Eignung hin geprüft, genotypisiert und die erhaltenen Daten statistisch auf eine Assoziation ausgewertet.

Patienten

Der psychiatrischen Klinik der LMU bekannte Patienten mit mindestens einer schizophrenen Episode in der Vergangenheit wurden schriftlich kontaktiert und bei Interesse zu einem Gespräch in die psychiatrische Klinik der LMU eingeladen bzw. bei Verhinderung Zuhause besucht.

Im Gespräch wurden die Teilnehmer anhand eines Fragebogens zu ihrer Kindheit und Bildung, zu ihrer Lebens- und Krankheitsgeschichte, zu ihren Sozial- und Familienverhältnissen und zu körperlichen und geistigen Vorerkrankungen befragt. Damit sollten andere Schizophrenie verursachende Faktoren identifiziert werden, die keine genetische Beteiligung aufweisen und die damit die Qualität der Studienergebnisse negativ beeinflussen. Patienten mit übermäßigem Medikamenten-, Alkohol- und Drogenkonsum (z.B. einmaliger intravenöser Heroinkonsum) wurden ebenso von der Studie ausgeschlossen wie Personen mit schwerem Schädel-Hirn-Trauma und Infektionen des Zentralnervensystems (z.B. Enzephalopathie, Neurosyphilis und Neuroborreliose) Autoimmunerkrankungen

(z.B. Multiple Sklerose) und Stoffwechselerkrankungen (z.B. Kupferspeicherkrankheit Morbus Wilson).

Zur Diagnosesicherung wurde das Strukturierte Klinische Interview für DSM-IV (SKID) durchgeführt (Wittchen et al., 1997). Der Interviewer stellt dabei fest vorgegebene Fragen, die der Patient frei beantwortet. Die Durchführung und Auswertung des Interviews ist standardisiert. Die Symptome und Syndrome werden in zwei Blöcken erhoben und den in DSM-IV festgelegten Diagnosen zugeordnet. Das SKID I ordnet die Störungen den Diagnosen der Achse I (psychische Störungen) zu und das SKID II die Störungen denen der Achse II (Persönlichkeitsstörungen). Das SKID erlaubt eine schnelle Diagnosestellung mit hoher Validität und Reliabilität, die sowohl bei mehrfacher Testung als auch bei Testung durch unterschiedliche Interviewer Bestand hat (Segal et al. 1994, Maffei et al 1997). Der Studieneinschluss erfolgte nach bestätigter Diagnose der Schizophrenie und nach Ausschluss verwandter bzw. anderer psychischer Erkrankungen, wie z.B. der schizoaffectiven oder der schizophreniformen Störung.

Kontrollprobanden

Die Auswahl der Kontrollprobanden aus dem Großraum München erfolgte durch Zufallsstichprobe des Einwohnermeldeamts München. Die Teilnehmer wurden unsererseits schriftlich kontaktiert und bei Interesse in ein mehrstufiges Auswahlverfahren einbezogen.

Ein telefonisches Screening klärte die grundsätzliche Eignung. Zur Sicherstellung eines homogenen Genpools wurde eine kaukasische Abstammung in mindestens dritter Generation vorausgesetzt. Zudem durften weder bei den Probanden noch bei nahen Verwandten (erst- und zweitgradige Verwandte) neurologische (Schädel-Hirn-Trauma, Infekte) oder psychische Auffälligkeiten (z.B. Depression, Suizidalität, Suchtmittelkonsum) bestehen.

Falls die Teilnehmer den Anforderungen entsprachen, wurde im zweiten Schritt ein mehrseitiger Fragebogen zugeschickt. Dieser fragte vertiefend nach den Inhalten des Screenings und zusätzlich nach der Biographie, dem Bildungsweg und den körperlichen Vorerkrankungen der Probanden. Bei Unklarheiten wurden die Sachverhalte telefonisch abgeklärt.

Als drittes erfolgte die Einladung zu einem mehrstündigen klinischen Interview, bei dem die Probanden körperlich untersucht und in einer Reihe von Tests auf mögliche Ausschlusskriterien gescreent wurden (Tabelle 2-1).

Tabelle 2-1: *Klinisches Interview - Tests und Ausschlusskriterien*

Dauer	klinische Tests*	Ausschlusskriterium
15 min	Körperliche Untersuchung	Neurologische Auffälligkeit
10 min	Mini-Mental-Status-Test	< 27 von 30 Punkten
45 min	Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (LEBI)	
5 min	DSM IV Achse IV: Psychosoziale Beeinträchtigung	
5 min	DSM IV Achse V: Globale Leistungsfähigkeit	
45 min	Strukturiertes klinisches Interview I für DSM-IV	Psych. Belastungen
5 min	Family History Assessment Module (FHAM)	Psych. Belastungen
45 min	Strukturiertes klinisches Interview II für DSM-IV	Psych. Belastungen

**in Untersuchungsreihenfolge*

Die standardisierte körperliche Untersuchung diente der Beurteilung des körperlichen Gesundheitszustandes mit Augenmerk auf dem neurologischen Status. Bei Probanden über dem 60. Lebensjahr wurde der Mini-Mental-Status-Test (Folstein et al., 1975) in deutscher Adaptation (Kessler et al., 2000) durchgeführt, um kognitive Defizite des Alters (z.B. Demenz) auszuschließen. Patienten mit kognitiven Auffälligkeiten, die im Test weniger als 27 von 30 Punkten erreichten, wurden ausgeschlossen.

Um für Probanden belastende Lebensereignisse und deren subjektive Bedeutung zu erfassen und einzuordnen, wurde das Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar LEBI (Richter und Guthke, 1996) durchgeführt. Eine Liste mit 50 belastenden Lebensereignissen wurde den Probanden vorgelegt und diese mussten angeben, ob und welche davon in den letzten Jahren eingetreten sind. Anschließend wurden bei jedem genannten Ereignis weiterführende Fragen zur subjektiven Bewertung, Vorhersagbarkeit, Kontrollierbarkeit, Bewältigung und sozialen Unterstützung gestellt.

Zwei weitere Fragebögen ermittelten die psychosozialen und umgebungsbedingten Belastungsfaktoren (DSM-IV Achse IV) und ermöglichten eine globale Beurteilung des Funktionsniveaus (DSM-IV Achse V).

Zum Ausschluss psychischer Erkrankungen der Probanden selbst wurde das Strukturierte Klinische Interview für DSM-IV SKID (Wittchen et al., 1997) durchgeführt. Auffällige Probanden wurden von der Studie ausgeschlossen.

Zum Ausschluss psychischer Erkrankungen der Verwandten wurde das Family History Assessment Module FHAM (Rice et al., 1995) als Screening durchgeführt. Probanden mit psychisch auffälligen Angehörigen wurden ausgeschlossen.

Als Test-Hinweis auf das allgemeine geistige Leistungsvermögen (Intelligenzquotient, IQ) der Probanden wurde der Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, Revision 1991 HAWIE-R (Tewes, 1991) verwendet. Der HAWIE-R besteht aus 11 Untertests, die in einen Verbal- und einen Handlungsteil unterteilt werden. Die Ergebnisse der Tests wurden notiert und nach Auswertungsschema in einen IQ-Wert umgewandelt. Der IQ ist ein sogenannter Abweichungs-Wert, der auf einen Mittelwert von 100 und eine Standardabweichung von 15 genormt ist. Probanden mit einem IQ unter 80 wurden ausgeschlossen.

2.3.2 Assoziation mit dem Endophänotyp Gedächtnisleistung

Zur Erhebung der Kognition wurden die Probanden verschiedenen neuropsychologischen Intelligenz- und Kognitionstests unterzogen. Dazu wurden diese nach Teilnahme an der Fall-Kontroll-Assoziationsstudie erneut kontaktiert und bei Interesse rekrutiert.

Die Kognitionstestung dauerte ca. 4 Stunden und umfasste eine Reihe von verschiedenen Tests, darunter der in der vorliegenden Studie analysierte Wechsler Gedächtnistest - Revidierte Fassung WMS-R (dt.) (Härting et al., 2000), der in Kapitel 3.4 ausführlich beschrieben wird. Durchgeführt wurden darüber hinaus der Zahlen-Verbindungs-Test (ZVT; Oswald & Roth 1987) zur Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit; der Trail Making Test (TMT, Reitan 1992) zur Testung der kognitiven Umschaltfähigkeit und Flexibilität unter Zeitdruck; der d2 Aufmerksamkeits-Belastungs-Test (Brickenkamp 2002) zur Testung der individuellen Aufmerksamkeit und Konzentrationsfähigkeit; der 3-7 Continuous Performance Test (Nuechterlein & Asarnow 2004) zur Testung der Vigilanz; der Wisconsin Card Sorting Test (WCST, Heaton 2003) zur Testung der Exekutivfunktionen; der Regensburger Wortflüssigkeitstest (RWT, Aschenbrenner

et al. 2000) zur Testung der Wortflüssigkeit; der n-back (Coppola 1999) zur Testung des Arbeitsgedächtnisses; der Verbale Lerntest und der Nonverbale Lerntest (VLT / NVLT, Sturm & Willmes 1999) zur Testung des visuellen Gedächtnis; und der Verbale Lern- und Merkfähigkeitstest (VLMT, Helmstaedter et al. 2001) zur Testung des verbalen Gedächtnis.

2.4 Wechsler Gedächtnistest – Revidierte Fassung

Die Wechsler Memory Scale – Revised (Wechsler, 1987) ist ein in der neuropsychologischen Forschung weit verbreiteter Test zur Messung verschiedener Gedächtnisfunktionen und -leistungen (Lees-Haley et al., 1996). Die 1987 für den US-amerikanischen Raum herausgegebene Vorlage wurde als Wechsler Gedächtnistest - Revidierte Fassung (WMS-R (dt.)) ins Deutsche übersetzt und neu normiert (Härting et al., 2000). Der WMS-R (dt.) ist als Einzeltest konzipiert und besteht aus 13 Untertests, die im Folgenden beschrieben werden.

Die Testdurchführung lief normiert ab. Alle Mitarbeiter wurden in der korrekten Testdurchführung geschult und die Teilnehmer den gleichen Testbedingungen unterworfen. Die Tests fanden in ruhigen Räumen der LMU unter vier Augen statt und folgten streng den Testvorgaben des Handbuchs. Die Gesamtdauer der Testbatterie betrug in etwa 120 Minuten. Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte standardisiert anhand der Vorgaben nach dem Vier-Augen-Prinzip.

2.4.1 Beschreibung der Untertests

Unter Information und Orientierung wurden Fragen zur persönlichen, zeitlichen und örtlichen Orientierung der Probanden gestellt, die der allgemeinen kognitiven Einschätzung der Probanden diene. Probanden mit möglicherweise vorliegenden kognitiven Beeinträchtigungen, die ein Ausschlusskriterium für die Durchführbarkeit des Tests und die Interpretierbarkeit der Ergebnisse darstellten, konnten somit zu Testbeginn ausgeschlossen werden. Das Resultat des Tests ging nicht in das Endergebnis ein.

Der Untertest Mentale Kontrolle prüfte die Konzentrationsfähigkeit der Probanden. Diese mussten in drei Durchgängen erlernte Zahlen- und Buchstabenfolgen

fehlerfrei aufzählen. Verlangt wurde, von rückwärts 20 bis 1 zu zählen, das Alphabet zu buchstabieren und von 1 angefangen immer 3 dazuzählen.

Bei dem Test Figurales Gedächtnis wurde das visuelle Gedächtnis für gezeigte Figuren getestet. In vier Durchgängen wurden den Probanden Muster präsentiert, die sie sich merken mussten. Anschließend mussten sie die gezeigten Muster unter mehreren Distraktoren wiedererkennen.

Beim Untertest Logisches Gedächtnis I mussten die Probanden jeweils nach einer zuvor vorgelesenen Geschichte diese nacherzählen. Es wurden zwei Geschichten vorgelesen. Die Ziffer I weist jeweils darauf hin, dass der Testinhalt direkt im Anschluss an die Präsentation wiedergegeben werden musste.

Die Zuordnung von Farbe zu Figur untersuchte der Test Visuelle Paarerkennung I. Dazu wurden in mehreren Durchgängen sechs sogenannte Figuren-Farb-Paare vorgelegt. Ein solches Paar bestand aus einer Strichfigur, die einer bestimmten Farbe zugeordnet war. Nach Erlernen der Kombination mussten die Probanden zu den einzeln gezeigten Figuren die passende Farbe nennen.

Der Untertest Verbale Paarerkennung I prüfte die Fähigkeit zwei verbal aufgenommene Begriffe zu verbinden. Dazu mussten acht vorgelesene Wortpaare eingeprägt werden und anschließend bei Nennung des ersten Wortes das zugehörige zweite Wort ergänzt werden. Die Aufgabenstellung entspricht derjenigen des vorherigen Tests, nur der Stimulus ist ein anderer.

Bei der visuellen Wiedergabe I wurde den Probanden in vier Durchgängen eine Karte mit einer geometrischen Figur vorgelegt. Diese mussten sich die Probanden jeweils zehn Sekunden lang einprägen und nach jeder Karte frei auf ein leeres Blatt Papier nachzeichnen.

Der Untertest Zahlenspanne prüfte die Konzentrationsfähigkeit der Probanden. Dabei wurden Zahlenfolgen vorgelesen, die direkt im Anschluss nachgesprochen werden sollten. Im ersten Durchgang mussten die Zahlen vorwärts – also gemäß Wortlaut - nachgesprochen werden. Die Zahlenfolgen wurden im Verlauf bis zu acht Ziffern lang, bei zweimaliger Falschbeantwortung wurde der Test vorzeitig abgebrochen. Im zweiten Durchgang mussten die Zahlen rückwärts aufgezählt werden.

Die Blockspanne oder visuellen Merkspanne prüfte die visuelle Konzentrationsfähigkeit. Ähnlich zum Untertest Zahlenspanne wurden den Probanden Folgen vorgegeben, die diese vorwärts und rückwärts aufzählen

mussten. Im Unterschied zur Zahlenspanne wurden bei der Blockspanne die Folgen nicht verbal genannt, sondern visuell in Form eines nachzufahrenden Musters gezeigt. Dazu wurde ein Feld mit nummerierten Blöcken gezeigt und die Zahlen nacheinander mit dem Stift abgefahren.

Die letzten vier Untertests Logisches Gedächtnis II, Visuelle Paarerkenung II, Verbale Paarerkenung II und Visuelle Wiedergabe II entsprechen den oben beschriebenen Tests. Die Ziffer II weist darauf hin, dass der Testinhalt nicht aufgefrischt, sondern mit jeweils ca. 30minütiger Verzögerung aus dem Gedächtnis abgerufen werden musste.

2.4.2 Auswertung der WMS-R

Die Auswertung der Untertests erfolgte gemäß den Anweisungen des Handbuchs. Aus den Rohwerten der Untertests errechneten sich die fünf Indizes: Verbales Gedächtnis, Visuelles Gedächtnis, die Summe beider ergibt den Index für Allgemeines Gedächtnis, Aufmerksamkeit / Konzentration und verzögerte Wiedergabe. Zuerst wurden zwei oder mehr Untertests einer der fünf Kategorien zugeordnet und die jeweiligen Rohwerte nach einem festen Schlüssel miteinander verrechnet.

Tabelle 2-2: Tests und Auswertung der WMS-R Untertests

Untertests*	Gewichtung	Auswertung	
Information und Orientierung	keine	Screening	
Mentale Kontrolle	x1	Aufmerksamkeit / Konzentration	
Figurales Gedächtnis	x1	Verbales Gedächtnis	Allgemeines Gedächtnis
Logisches Gedächtnis I	x2		
Visuelle Paarerkennung I	x1	Visuelles Gedächtnis	
Verbale Paarerkennung I	x1		
Visuelle Wiedergabe I	x1		
Zahlenspanne	x2	Aufmerksamkeit / Konzentration	
Blockspanne	x2		
Logisches Gedächtnis II	x1	Verzögerte Wiedergabe	
Visuelle Paarerkennung II	x2		
Verbale Paarerkennung II	x2		
Visuelle Wiedergabe II	x1		

*Absteigend in Testreihenfolge

Da die Aussagekraft einzelner Tests größer ist als die der anderen, gehen diese stärker in die Auswertung ein. Dazu wurden die Werte entsprechend dem Gewicht verdoppelt und anschließend aufsummiert (siehe Tabelle 2-2, S.67).

Die Ergebnisse wurden als Index-Rohwerte bezeichnet. Der Index-Rohwert für das Allgemeine Gedächtnis setzte sich aus der Summe der Index-Rohwerte für das Verbale und das Visuelle Gedächtnis zusammen. Die Kategorie Aufmerksamkeit / Konzentration bildet dabei in einem Index zwei theoretisch getrennte und verschiedene Konstrukte ab (Moore und Baker, 1997).

Danach wurden die Index-Rohwerte mit einer Normwerttabelle verglichen und die entsprechenden Gesamtindizes ausgelesen. Die Index-Werte sind auf einen Mittelwert von 100 und einer Standardabweichung von 15 Punkte normiert.

2.5 Laborverfahren

Die für die Genotypisierung der SNPs nötige hochreine genomische DNA wurde labortechnisch aus den Blutzellen der Studienprobanden extrahiert und nach Mengenadjustierung im Massenspektrometer analysiert.

2.5.1 DNA-Extraktion

Tabelle 2-3: Zur DNA-Extraktion benötigte Materialien

Materialien	Hersteller
EDTA Monovette (7,5ml)	Sarstedt, Nümbrecht
<i>QIAamp® Maxi Spin Column</i>	Qiagen, Hilden
Zentrifugenröhren (50ml)	Sarstedt, Nümbrecht
Rotixa RP Standzentrifuge	Hettich, Tuttlingen
Phosphatgepufferte Salzlösung	Carl Roth, Hamburg
Eppendorf Research Pipette (100-1000µl)	Eppendorf, Hamburg
Qiagen Protease (500µl)	Qiagen, Hilden
Lysepuffer AL (10ml)	Qiagen, Hilden
WB Wasserbad	Memmert, Schwabhausen
Vortex Genie	Scientific Industries, N.Y., USA
Ethanol Rotipuran 96 - 100% (10ml)	Carl Roth, Karlsruhe
Waschpuffer AW1 (5ml)	Qiagen, Hilden
Waschpuffer AW2 (5ml)	Qiagen, Hilden
Elutionspuffer AE (1ml)	Qiagen, Hilden

Zur Extraktion der DNA aus dem Probandenblut wurde der QIAamp-DNA Maxikit gemäß der beiliegenden Anleitung verwendet (Qiagen, Hilden). Dieses ist ein für den Hochdurchsatz geeignetes, qualitativ hochwertiges und zeitsparendes Verfahren zur Reinigung und Gewinnung von DNA (Scherczinger et al., 1997). Eine Übersicht der verwendeten Materialien zeigt Tabelle 2-3 (S.68).

Verfahren

Das Vollblut der Probanden wurde lysiert, die DNA ausgefällt und auf eine Spin-Säule (QIAamp® Maxi Spin Column) überführt (siehe Abbildung 2-1). Die Säule enthält eine Silikagel-Membran, an die die DNA durch polare Wechselwirkungen mit der porösen Oberfläche aus Silikagel gebunden wird (Adsorption). Dazu muss ein bestimmtes, die Adsorption begünstigendes pH-Milieu, herrschen. Um in diesem und den folgenden Schritten die Lösungen durch die Membran zu pressen, befindet sich die Säule in einer Zentrifugenröhre und wird mit dieser zentrifugiert.

In zwei Reinigungsschritten werden überschüssige Rückstände von Proteinen und RNA fortgespült, während die DNA an der Membran verbleibt. Abschließend wird durch Änderung des pH-Milieus die DNA von der Membran gelöst (Elution) und damit die zur weiteren Verwendung fertige DNA gewonnen.

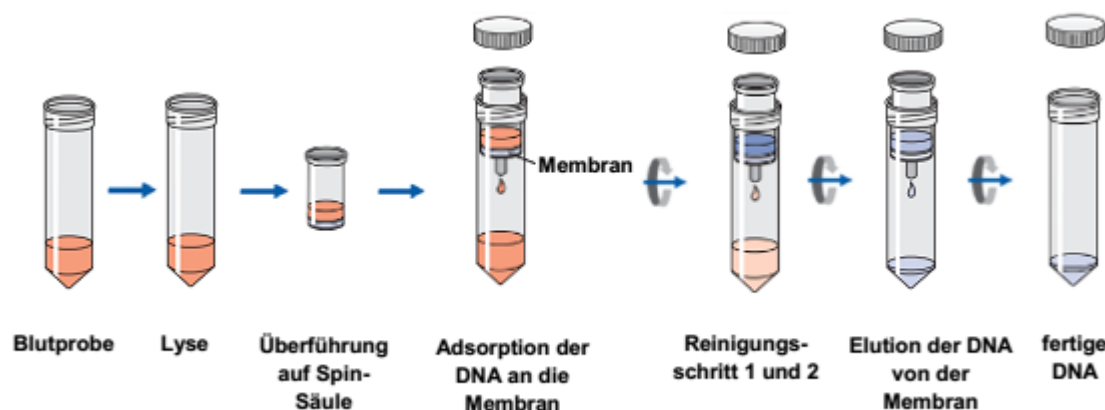


Abbildung 2-1: Verfahrensschritte der DNA-Reinigung. Eine schematische Darstellung von der Blutprobe bis zur fertigen DNA. (Qiagen, 2005)

Durchführung

Jedem Studienteilnehmer wurde 7,5ml venöses Vollblut in EDTA-Röhrchen (Monovette®, Sarstedt) abgenommen und anschließend in der Zentrifuge (3000

Umdrehungen pro Minute - revolutions per minute (rpm), 4°C Temperatur, 10 min Dauer) in Blutsediment und -plasma getrennt. Das Sediment wurde zur Weiterverwendung bei -20°C zwischengelagert. Alle weiteren Schritte orientierten sich am QIAamp DNA Blood Midi / Maxi Handbook (Qiagen, 2005).

Zur Lyse der DNA wurde das Sediment bei Raumtemperatur mit isotonischer phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) bis zu einem für das QIAamp-Verfahren optimierten Ausgangsvolumen von 10ml verdünnt und gemischt. Gemäß Vorgabe wurden 500µl Proteinase K (Qiagen Protease) und 12ml Lyse-Puffer (Puffer AL, enthält Guanidinhydrochlorid) zugegeben (Eppendorf Research Pipette). Zur Optimierung der Lysebedingungen wurde die Suspension für 60s im Vortexmischer (Vortex Genie) homogenisiert und 10min bei 70°C im Wasserbad (WB Wasserbad) inkubiert.

Zur Entfernung der Hydrathülle wurden 10ml hochreines Ethanol (96 - 100%) zugegeben und die Suspension zweigeteilt auf die Spin-Säule überführt und zentrifugiert (3000rpm für 3min).

Die Reinigung der DNA erfolgte in zwei Schritten durch Zentrifugation von 5ml Ethanol-und Guanidinhydrochlorid-haltigem Puffer (Puffer AW1) mit 5000rpm über 1min) und anschließend Zentrifugation von 5ml des Ethanol-haltigen, salzarmen Puffer (Puffer AW2) zugegeben mit 5000rpm über 15min. Zentrifugenröhre und überschüssiges Filtrat wurden im Anschluss verworfen.

Die Elution erfolgte mit einer unbenutzten Zentrifugenröhre. Nach Zugabe von 1ml TRIS-haltigem Elutions-Puffer (Puffer AE) wurde die Lösung nach Inkubation (5min bei Raumtemperatur) mit 5000rpm über 2min zentrifugiert. Die DNA wurde bis zur weiteren Verwendung bei -80°C gelagert.

2.5.2 DNA-Konzentrationseinstellung

Verfahren

Die durchschnittliche Konzentration der extrahierten DNA betrug 120-150ng/µl. Die genaue Konzentration wurde gemessen und dann durch Verdünnung mit zweifach destilliertem Wasser (H₂O) auf eine einheitliche Konzentration und Volumen eingestellt. Die dafür verwendeten Materialien sind in Tabelle 2.4 aufgeführt.

Tabelle 2-4: Zur Konzentrationseinstellung verwendete Materialien

Material, Reagenz, Gerät	Hersteller
H ₂ O Reinheitsgrad Typ I (Purelab ultra)	ELGA, Celle
Thermo Fast 96 well Plate	ABgene, Hamburg
Human genomic DNA 100ng/μl	Clontech Inc., Mountain View, USA
PicoGreen dsDNA reagent	Invitrogen GmbH, Karlsruhe
Conductive Roborack Tips (20 / 200 / 1000μl)	Perkin Elmer Inc., Waltham, USA
96 Well Flat Bottom Plate Black	Greiner Bio-one, Frickenhausen
Janus Automated Workstation	Perkin Elmer Inc., Waltham, USA
Victor 3 Multilabel Counter 1420	Perkin Elmer Inc., Waltham, USA

Die Konzentrationsmessung erfolgte durch PicoGreen - Fluoreszenzmessung (*PicoGreen dsDNA reagent*). Dieses ermöglicht durch DNA-vermittelte Lichtemission proportional zur DNA-Konzentration einen genauen Rückschluss auf die DNA-Konzentration in einem DNA-Bereich von 25pg/ml - 1μg/ml zu (Singer et al., 1997). Anhand von Standard-DNA bekannter Konzentration erfolgte die Kalibrierung der Messwerte.

Vorbereitung der Reagenzien

Die Standard-DNA wurde in einer Verdünnungsreihe ausgehend von einer Ausgangslösung mit kommerzieller DNA (Clontech Human genomic DNA, 100ng/μl) erstellt. Durch entsprechende Verdünnung mit reinem H₂O wurden DNA-Konzentrationen von 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125 und 1,5625ng/μl erstellt.

Die Probanden-DNA wurde mit H₂O auf die optimale Messkonzentration von 20 - 200ng/μl vorverdünnt. Hierzu wurden pro Vertiefung (Well) einer Mikrotiterplatte (Thermo Fast 96 well Plate) je 5μl DNA und 45μl H₂O pipettiert.

Das PicoGreen Konzentrat wurde bei Raumtemperatur lichtgeschützt im Verhältnis 1:156 mit H₂O verdünnt (Singer et al., 1997).

Vorbereitung der Messplatte

Die Messung wurde auf schwarzen Mikrotiterplatten (Greiner Bio-one, Frickenhausen) vollautomatisch per Titrierroboter vorbereitet (Janus Automated Workstation, Perkin Elmer). In jedes Well wurden 50μl H₂O pipettiert und nach Schema 5μl Standard-DNA oder Probanden-DNA hinzugegeben. Zur

Qualitätssicherung wurde jede DNA-Messung doppelt durchgeführt. Je Well wurden 145µl PicoGreen hinzu pipettiert und die Platte nach schütteln in Doppelkreisen mit dem Victor³ Multilabel Counter Model 1420 Fluoreszenzmessgerät (Perkin Elmer) gemessen.

Messung und DNA-Einstellung

Das PicoGreen wurde Licht von 485nm Wellenlänge angeregt und die Emission im Bereich von 535nm Wellenlänge mit einer Einzelmesszeit von 0,1s pro Well gemessen. Die Messung wurden per Software (Wallac 1420 Workstation Software) gemittelt und anhand der Standard-DNA kalibriert (8-Punkte-Kalibrierung).

Die zur Einstellung der Endkonzentration von 50ng/µl individuell nötige Menge H₂O wurde am PC durch ein Makro berechnet und mit dem Roboter hinzu pipettiert. Das Endvolumen der Arbeitslösung wurde auf 500µl begrenzt und bei -80°C zwischengelagert. Bei einer DNA-Konzentration im unteren Messbereich (<5ng/µl) wurde eine Neuextraktion durchgeführt.

2.5.3 Genotypisierung

Die Genotypisierung erfolgte mit dem iPLEX-Verfahren (Sequenom, San Diego). Der Ablauf erfolgte gemäß den Anweisungen der *iPLEX Application Note* (Oeth et al., 2005). Die benötigten Geräte sind Tabelle 2.5 zu entnehmen, die Reagenzien sind im weiteren Verlauf aufgeführt. Das iPLEX-Verfahren erlaubt die automatisierte und zeitgleiche Untersuchung mehrerer SNPs mit sehr hoher Sensitivität und Genauigkeit (Gabriel et al., 2009).

Tabelle 2-5: Zur Genotypisierung benötigte Geräte

Materialien	Hersteller
Microlab 4000	Hamilton Robotics, Martinsried
Clean Resin	Sequenom, San Diego, USA
GeneAmp PCR System 9700	Applied Biosystems, Darmstadt
MassARRAY POINT Nanodispenser	Sequenom, San Diego, USA
SpectroCHIP®	Sequenom, San Diego, USA
MassARRAY Massenspektrometer	Sequenom, San Diego, USA
TYPER Analyzer 3.3.0 Software	Sequenom, San Diego, USA

Verfahren

Erst werden die die SNPs umgebenden Bereiche durch Polymerase-Kettenreaktion (PCR) vervielfältigt, um eine möglichst hohe Zahl an SNP-Loci bei minimaler Zahl an Nebenprodukten zu erhalten. In einem Zwischenschritt wurden die überschüssigen freien Desoxynukleotide (dNTPs) inaktiviert (Dephosphorylierung). In der darauffolgenden Extensionsreaktion lagern sich spezielle Extensionsprimer an den Einzelstrang exakt vor der Position des jeweiligen SNP und werden durch die Polymerase mit einem massekodierten komplementären Nukleotid ergänzt (iPLEX-Reaktion). Zuletzt werden diese im Massenspektrometer durch Laserbeschuss ionisiert, verdampft und durch die Flugzeit der beschleunigten Ionen im angelegten elektrostatischen Feld analysiert (Matrix-assisted laser desorption / ionization time-of-flight Mass Spectrometry, MALDI-TOF MS). Damit lässt sich auf den Genotypen des Probanden im entsprechenden Polymorphismus rückschließen.

Assay Design

Die hier verwendeten Primer wurden vom Programm *AssayDesign 3.1* (Sequenom, San Diego) konzipiert. Für jeden SNP existiert ein Primerpaar für die PCR-Reaktion und ein separater Primer für die iPLEX-Reaktion (Tabelle 2-6) Die mittlere Länge der sich ergebenden PCR-Fragmente beträgt ca. 100 Basenpaare.

Tabelle 2-6: Design der zur Genotypisierung verwendeten Primer

SNP-Nr.	PCR-Reaktion		Fragment-länge	Extensionsprimer
	Primer 1	Primer 2		
rs7350522	ACG TTG GAT GAA ACA CCC TGC AAG GAC CC	ACG TTG GAT GTC TGA GAT CTC CTG TTG ACC	109 bp	tgaaaCTCTGGGTC CCAGTCACAGTG
rs7131056	ACG TTG GAT GGT TAA TCA AGG CCA CAC AGG	ACG TTG GAT GGG GCA GCA TGG AAA TAT TG	103 bp	ccGACAGATCTAGG CTCAAATA
rs7122454	ACG TTG GAT GTA AAA TGG TGG TGG CCA GAG	ACG TTG GAT GGT CTT GAA ACA CTG AAG CTC	104 bp	tcaaaACGAATTCTC CATGTTACT
rs6277	ACG TTG GAT GAA GAT CTT GGC AAT CTT GGG	ACG TTG GAT GTC CCA CCA TGG TCT CCA CAG	112 bp	ttTCTCCACAGCAC TCC
rs6275	ACG TTG GAT GAT TCT TCT CTG GTT TGG CGG	ACG TTG GAT GAG CCA CCA CCA GCT GAC TCT	104 bp	CCCGACCCGTCCC ACCA
rs4648319	ACG TTG GAT GAT CTG TCC TCC TAG CAT ACC	ACG TTG GAT GCA AGA ACT GGT GTA CAC AGG	102 bp	GGACTAACTGCCT GG
rs4648318	ACG TTG GAT GTG GGC TGC AAA GGT AAT TAG	ACG TTG GAT GTT CCA TGG GAC ACA GCA AAC	115 bp	ACAGCAAACACAA ATCTCTC
rs4587762	ACG TTG GAT GCG TCT TTG AGG TCT TGA CAC	ACG TTG GAT GGA GGC CTT CTT GCA ATG GAG	111 bp	catGCAAGATGGGA CTTGA

SNP-Nr.	PCR-Reaktion		Fragment-länge	Extensionsprimer
	Primer 1	Primer 2		
rs4586205	ACG TTG GAT GGT CCC CTA AAT TTC AGG GAT	ACG TTG GAT GAA GCC ATC TTC ACC AAT TGC	110 bp	TGCAATGTGTGGG CCTTA
rs4460839	ACG TTG GAT GTG TGT TCT GGA ACC AGA GAG	ACG TTG GAT GAG CTC AGT TCC TTC TCA CAG	97 bp	GGGTCTGTGAACC CA
rs4274224	ACG TTG GAT GAG CTC ATT GTC ACT TCC GAG	ACG TTG GAT GGC TCC TTA CCA ATC CTT TCC	99 bp	gtcaTTTCCACTCTA GGGAACC
rs2734841	ACG TTG GAT GTA GCC ACA GAA GCA CTG TAG	ACG TTG GAT GCT TCA CTG CAA ATG GGT GTC	95 bp	caaGTCTAGGATCC AAGACC
rs2440390	ACG TTG GAT GTC ACA GGA ATT CTA AGT GGG	ACG TTG GAT GAG ACG CCT GTC CTC TAT CTC	99 bp	TGTGCATTAATCCA AGTATGTTTAG
rs2283265	ACG TTG GAT GTC AGA TCC TGT CAC TGA CAC	ACG TTG GAT GAT GAG GAA ACA GGC TCA TAG	98 bp	AGGCTCATAGAAG GTAAG
rs1801028	ACG TTG GAT GTA CAG CCC CAT CCC ACC CA	ACG TTG GAT GTG TCG GGA GTG CTG TGG AGA	99 bp	GTGGAGACCATGG TGG
rs17115583	ACG TTG GAT GAC CCA GAT CTA GCT GTT GTC	ACG TTG GAT GCC CTG GAA TTG AAG AAG GTG	103 bp	ttAAGAAGGTGTGT CAATGC
rs12574471	ACG TTG GAT GAC CCA GGT ATC TGT GTG AAG	ACG TTG GAT GAG TTT CTG CAT CCT TGC CTG	105 bp	ctcaTGCAGGTGGG AGGAGGATAC
rs1124492	ACG TTG GAT GGT AGG GCA TTC CAT GTA CAC	ACG TTG GAT GCT GCT CTG CTC ACC TAA CTC	116 bp	CACTTTTTCAGG ACCTC
rs11214613	ACG TTG GAT GTT GTG CCA TGA ACT CAG GTG	ACG TTG GAT GAA TGT GAA GGG TGT GCT TGG	108 bp	agatGCCAAGCTGT TGGAAG
rs10891552	ACG TTG GAT GTA ACC ACC TAA GGT CCA CTG	ACG TTG GAT GAG AAA CTC CCC CTT CTC CTG	112 bp	cccGTTTCCTAAGAT ATGACTGATG
rs1079727	ACG TTG GAT GGG TGT CTC TGT GAT GAA TGG	ACG TTG GAT GCT GCA ACC TTT GTT AAC CCC	98 bp	caCCATGTGTTTTTC TTAGATTCTGTAT

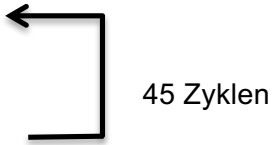
PCR-Reaktion

Auf vier 96 well Platten wurde mit dem Pipettierroboter (Microlab 4000) in jedes Well der PCR-Mastermix (u.a. DNA, Primerpaare, Nukleotide, Puffer und Taq-Polymerase - siehe Tab. 2-7) pipettiert und zu einer 384 Well Platte zusammengeführt. Diese wurde in einen Thermocycler (GeneAmp PCR System 9700) transferiert.

Tabelle 2-7: PCR-Mastermix - Zusammensetzung

Reagenzien	Menge	Hersteller
Genomische DNA	2,500µl	
H ₂ O Reinheitsgrad Typ I (Purelab ultra)	1,850µl	ELGA, GB
Primer Mix je 500nM	1,000µl	Qiagen, Hilden
10x konz. Polymerase-Puffer mit MgCl ₂	0,625µl	Qiagen, Hilden
MgCl 25mM	0,325µl	Qiagen, Hilden
Hotstar Taq-Polymerase 5U / µl	0,100µl	Qiagen, Hilden
Desoxynukleotid-Mix dNTP 25mM	0,100µl	ABgene, Hamburg

Der Ablauf der PCR-Reaktion besteht aus drei Schritten, die zyklisch durchlaufen werden, sowie einem initialen und finalen Schritt:

- | | | |
|----------------------------------|----------------|--|
| 1) Initiale Denaturierung | 94°C für 15min | |
| 2) Denaturierung | 94°C für 20sec |  |
| 3) Annealing | 56°C für 30sec | |
| 4) Elongation | 72°C für 1min | |
| 5) Finale Elongation | 72°C für 3min | |

Durch Erhitzen auf 95°C trennt sich der DNA-Doppelstrang in Einzelstränge (Denaturierung). Nach einer Abkühlung auf 56°C erfolgt die Anlagerung der Primerpaare an die komplementären Einzelstrangsequenzen (*Annealing*). Bei Erwärmung auf 72°C - dem Temperaturoptimum der hitzestabilen Taq-Polymerase – synthetisiert die Polymerase ausgehend vom jeweiligen Primer aus vorhandenen Desoxynukleosid-Triphosphaten (dNTPs) den Zweitstrang (*Elongation*). Nach der initialen Denaturierung wurden die folgenden Phasen (Schritt 2, 3 und 4) in 45 Zyklen durchlaufen und die Proben nach der finalen Elongation (Schritt 5) auf 4°C herunter gekühlt.

Dephosphorylierung

Die überschüssigen dNTPs der PCR wurden mit *Shrimp Alkaline Phosphatase* (SAP) dephosphoryliert, weil diese die folgende iPLEX-Reaktion gestört hätten. Jedes PCR-Gefäß wurde hierzu mit dem SAP-Mix (Tabelle 2-8) versetzt und bei 37°C für 20mn im Thermocycler inkubiert. Inaktivierung des SAP-Enzyms erfolgte durch Hitzedenaturierung des Enzyms bei Erhitzung auf 85°C für 5min.

Tabelle 2-8: SAP-Mix - Zusammensetzung

Reagenzien	Menge	Hersteller
Hochreines H ₂ O	1,530µl	Qiagen, Hilden
10-fach konzentrierter SAP-Puffer	0,170µl	Qiagen, Hilden
SAP Enzym (1U / µl)	0,300µl	Qiagen, Hilden

iPLEX-Reaktion

Der iPLEX-Mix wurde in jede der 384 Wells zugegeben und die iPLEX-Reaktion im Thermocycler durchgeführt (Zusammensetzung Tabelle 2-9).

Tabelle 2-9: Zusammensetzung des iPLEX-Mix

Reagenzien	Menge	Hersteller
hochreines H ₂ O	0,755 µl	Qiagen, Hilden
Primer-Mix	0,804 µl	Qiagen, Hilden
iPLEX-Puffer 10x konz.	0,200 µl	Qiagen, Hilden
iPLEX Termination-Mix	0,200 µl	Qiagen, Hilden
iPLEX Enzym	0,041 µl	Qiagen, Hilden

Durch Zugabe von Didesoxynukleosidtriphosphaten (ddNTPs) können die Primer allelspezifisch nur um genau eine Base verlängert werden, weil die verbauten ddNTPs ihrerseits wegen der fehlenden 3'-Hydroxylgruppe nicht mehr verlängert werden können. Der Ablauf der einzelnen Schritte der iPLEX-Reaktion ähnelt denen der PCR-Reaktion.

1) Initiale Denaturierung	94°C für 30sec	
2) Denaturierung	94°C für 5sec	
3) Annealing	56°C für 5sec	
4) Elongation	80°C für 5sec	
5) Finale Elongation	72°C für 3min	

Schritt 2, 3 und 4 wurden 40-mal durchlaufen, wobei innerhalb jeden Schritts die Schritte 3 und 4 5-mal durchlaufen wurden, sodass sich die Zahl der Gesamtzyklen auf 200 (40 x 5) beläuft.

MALDI-TOF Massenspektrometrie

Die Proben wurden mittels des Ionenaustauscherharzes *Clean Resin* aufbereitet, wodurch Verunreinigungen mit Natrium- und Kalium-Ionen beseitigt wurden. Deren Massen (22 bzw. 38 Dalton) interferieren bei der Messung, weil sie eine ähnliche Massedifferenz zu den iPlex-Produkte vortäuschen können. Diese beträgt bezogen auf ddCTP: +24 Dalton (Da) für ddATP, +40 Da für ddGTP und +70 Da für ddTTP.

Zur Massenspektrometrie wurden mit einem *MassARRAY POINT* Nanodispenser je 5 µl Lösung auf einen Siliziumchip (SpectroCHIP®) übertragen. Zur Kalibrierung dienen zusätzlich zehn Spots mit Oligonukleotiden bekannter Masse. Ein Chipschlitten führt den Chip in das Massenspektrometer ein. Der Chip besitzt eine Matrix aus 3-Hydroxypicolinsäure, die bei Laserbeschuss verdampft und die Extensionsprodukte mitreißt und ionisiert. Diese werden in Richtung Sensor beschleunigt und die Flugzeit (t) dauert in Abhängigkeit ihrer Masse (m) und Ladung (z) unterschiedlich lang. Es gilt folgender Zusammenhang:

$$t \sim \sqrt{\frac{m}{z}}$$

Wird beispielsweise ein A / C-Single Nucleotid Polymorphismus untersucht, so wird in der iPLEX-Reaktion das Adenin mit einem Didesoxythymin (ddTTP) und an das Cytosin mit einem Didesoxyguanosin (ddCTP) komplementiert, die jeweils durch die Polymerase an den jeweiligen Extensionsprimer angehängt werden. Die sich ergebende Masse von ddTTP bzw. ddGTP und Extensionsprimer sind bekannt und werden per Software (TYPER Analyzer 3.3.0) den spektrometrisch gemessenen Massen zugeordnet.

1. Homozygot für Adenin: Großer Peak bei der für Adenin berechneten Masse (ddTTP + Extensionsprimer)
2. Heterozygot für Adenin und Cytosin: zwei kleinere Peaks bei der für Adenin und Cytosin berechneten Masse. (ddTTP + Primer und ddGTP + Primer)
3. Homozygot für Cytosin: Großer Peak bei der für Cytosin berechneten Masse (ddTGp + Extensionsprimer)

2.6 Qualitätskontrolle

Zur Qualitätskontrolle wurden alle Ergebnisse einer iPlex-Platte (Plex) in eine SPSS-Datei - *Statistical Package for Social Sciences Version 19* (SPSS 19, Inc Chicago, 2005) – zusammengefasst und auf die qualitative Trennschärfe ihrer Ergebnisse („call“) überprüft. Plexe mit einer schlechten Assay-Performanz oder Kontaminationen können zu einer höheren Fehlerrate im „Calling“ führen. Es wurden nur die Ergebnisse von Probanden mit einer plexcallrate über 50% miteinbezogen.

2.7 Statistische Methoden

Die statistische Auswertung wurde mit Hilfe des *Statistical Package for Social Sciences Version 19* (SPSS 19, Inc Chicago, 2005) durchgeführt.

Die Genotypenverteilung wurde mit dem exakten Test nach Fisher auf Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Equilibrium (HWE) überprüft. Zur Untersuchung des genetischen Einflusses auf den Phänotyp Schizophrenie in der Fall-Kontroll-Stichprobe wurden etwaige Unterschiede in der statistischen Verteilung mit dem Chi-Quadrat Test nach Pearson bestimmt.

Zur Untersuchung des genetischen Einflusses auf die kognitive Leistung wurde eine multiple lineare Regression unter Einbeziehung der Kovariablen Alter, Geschlecht und Bildungsgrad durchgeführt. Zur Berechnung der adjustierten Mittelwerte wurden für alle Regressionskoeffizienten außer dem Genotyp der jeweilige Mittelwert in die Gleichung mit den geschätzten Koeffizienten eingesetzt und mit Hilfe der Gleichung der adjustierte Mittelwert (*adjusted mean*) für jeden Genotyp berechnet.

Die Haplotyp- Analyse wurde mit Hilfe der Haploview Software Version 4.2 (Barrett et al., 2005) durchgeführt. Haplotyp Blöcke wurden nach der Methode von Gabriel (Gabriel et al., 2002) bestimmt. Haplotyp Frequenzen zwischen Patienten und Kontrollen wurden mittels eines Chi Quadrat Tests verglichen. Der *p-Wert* wurde mit einem Permutationstest mit 50000 Permutationen bestimmt. Damit ist er auch für multiples Testen korrigiert. Es wurden nur Haplotypen mit einer Frequenz über 1 Prozent in die Analyse miteinbezogen. Probanden mit mehr als 50 Prozent fehlenden Genotypen wurden ausgeschlossen.

Als statistisches Signifikanzniveau wurde ein *p-Wert* von $< 0,05$ zugrunde gelegt. Ein *p-Wert* von $< 0,1$ wurde als Trend zur Signifikanz gewertet.

3 Ergebnisse

Es wurden 21 Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNPs) im Hinblick auf die Häufigkeit des Auftretens bei Schizophrenie (Fall-Kontroll-Stichprobe) und des Zusammenhangs zur Leistung bei Summenskalen des WMS-R (Endophänotyp-Stichprobe) analysiert.

3.1 Variablenbeschreibung

Beschrieben werden die Eigenschaften der Stichprobe und der untersuchten Polymorphismen.

3.1.1 Alter, Geschlecht, Bildung der Stichprobe

Alle an der Studie beteiligten Personen waren kaukasischer Abstammung und stammten aus dem Raum München. Rekrutiert wurden Probanden für die Assoziation von Fällen mit Kontrollen und für die Assoziation mit kognitiven Leistungen (Endophänotyp-Stichprobe).

Fall-Kontroll-Stichprobe

Um eine Assoziation zwischen Polymorphismen im DRD 2 Gen und Schizophrenie nachzuweisen wurden die Daten von 3272 Probanden - 936 erkrankte Patienten und 2336 gesunde Kontrollen – ausgewertet (siehe Tabelle 3-1).

Tabelle 3-1: Merkmalsverteilung (Alter / Geschlecht) der Fall-Kontroll-Stichprobe

	Anzahl		Alter (Jahre)	Geschlecht (♂ / ♀)			
	n	(%)	MW ± SD	n ♂	(%) ♂	n ♀	(%) ♀
Patient	936	29%	37,7 ± 11,7	589	62,90%	347	37,1%
Kontrolle	2336	71%	51,8 ± 15,6	1136	48,60%	1200	51,4%
Gesamt	3272	100%	47,8 ± 15,9	1175	52,70%	1547	47,3%

n = Anzahl; *MW* = Mittelwert; *SD* = Standardabweichung

Das Durchschnittsalter der Patienten lag mit 37,7 Jahren deutlich niedriger als das Alter der Kontrollprobanden mit durchschnittlich 51,8 Jahren. Die Altersspannweite der Patienten betrug 18 bis 71 Jahre, die der Kontrollen betrug 19 bis 79 Jahre. In der Patientengruppe war die Anzahl männlicher Teilnehmer mit 589 Männern im Vergleich zu 347 Frauen erhöht. In der Kontrollgruppe war diese mit 1136 Männern und 1200 Frauen nahezu ausgeglichen. Das Alter und das Geschlecht der Probanden flossen als Kovariablen in die Berechnung ein.

Endophänotyp-Stichprobe

Um eine Assoziation zwischen den Polymorphismen im DRD 2 Gen und den kognitiven Leistungen der Probanden herzustellen, wurde eine Untergruppe von 884 Fall-Kontroll-Probanden - 358 Patienten und 526 Kontrollen – genotypisiert und einem Gedächtnistest unterzogen (siehe Tabelle 3-2).

Tabelle 3-2: Merkmalsverteilung (Alter / Geschlecht / Bildung) der Endophänotyp-Stichprobe

	Anzahl		Alter	Geschlecht (♂ / ♀)				Bildungsgrad		
	n	(%)	MW ± SD	n ♂	(%)	n ♀	(%)	Niedrig	Mittel	Hoch
Patient	358	40%	38,5 ± 10,9	213	59%	145	41%	126	97	135
Kontrolle	526	60%	49,2 ± 13,8	260	49%	266	51%	103	194	229
Gesamt	884	100%	44,8 ± 13,7	473	54%	411	46%	229	291	364

n = Anzahl; MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung

Das Durchschnittsalter der Patienten lag mit 38,5 Jahren unter dem Alter der Kontrollen mit 49,2 Jahren. Die Altersspannweite reichte bei Patienten von 18 bis 70 Jahre und bei Kontrollen von 20 bis 72 Jahre. In der Patientengruppe fanden sich mit 213 Teilnehmern mehr Männer als Frauen (145 Teilnehmerinnen). In der Kontrollgruppe war der Anteil mit 260 Männern und 266 Frauen etwa gleich.

Der Bildungsgrad wurde anhand des höchsten erreichten Schulabschlusses eingeteilt. Dabei zeigten Patienten einen etwas niedrigeren Bildungsgrad als Kontrollen: einen niedrigen Bildungsgrad (Hauptschulabschluss) hatten 126 Patienten sowie 103 Kontrollen, einen mittleren Bildungsgrad (Realschulabschluss) erreichten 97 Patienten sowie 194 Kontrollen und einen hohen Bildungsgrad (Abitur) erreichten 135 Patienten und 229 Kontrollen

3.1.2 SNP-Charakteristika

Es wurden 21 SNPs mit Lokalisation im DRD2 Gen ausgewählt und die minore Allelfrequenz und das Hardy-Weinberg Gleichgewicht berechnet.

Position der SNPs

Die 21 untersuchten Polymorphismen liegen alle im DRD2 Gen, das in Abschnitt q23 des Chromosoms 11 lokalisiert ist. Die Position der SNPs auf dem DRD2 Gen veranschaulicht Abbildung 3-1.

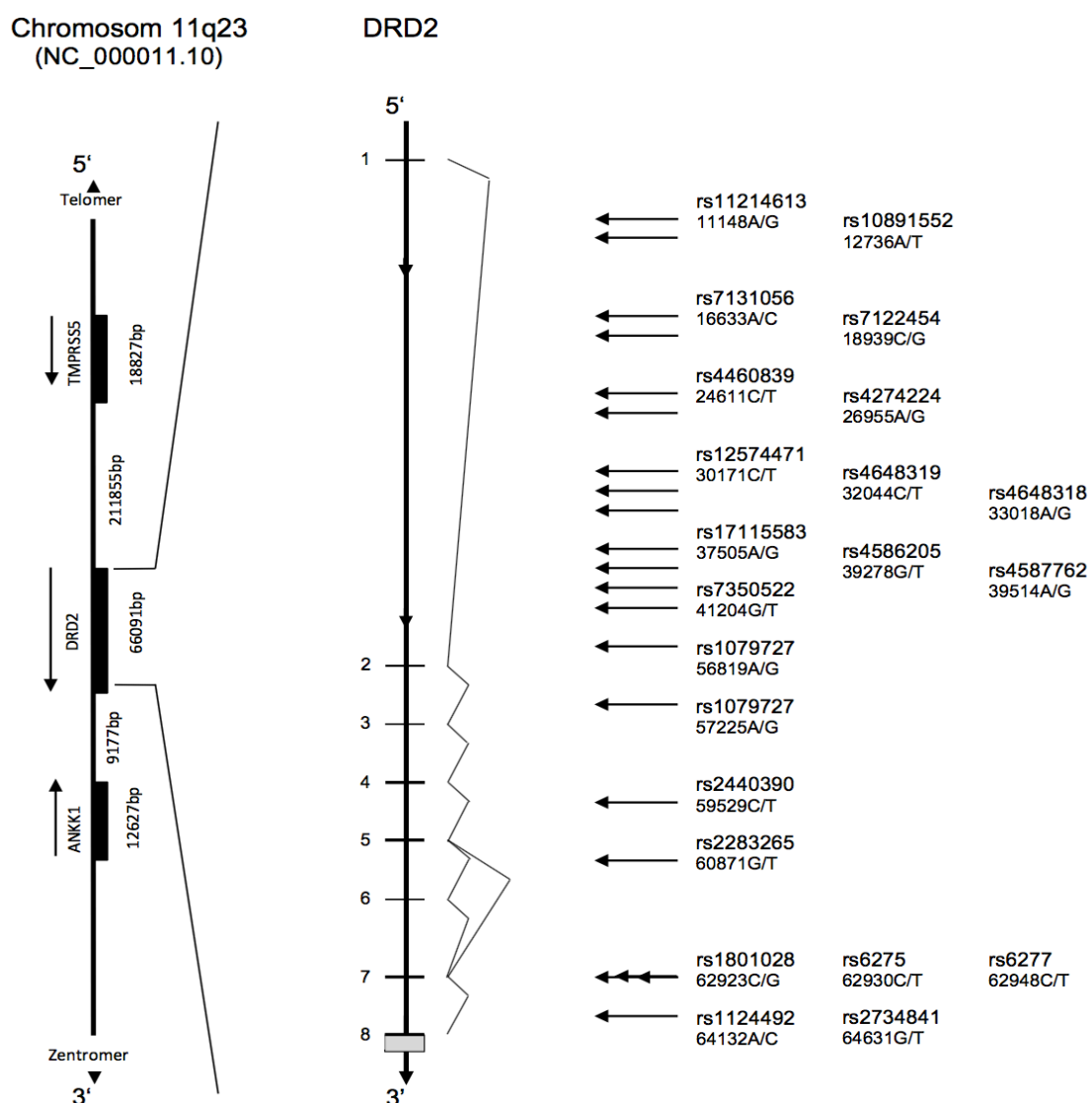


Abbildung 3-1: Darstellung der unmittelbaren Nachbarschaft des DRD2-Gens auf Chromosom 11 und Überblick über die DRD2 mRNA-Struktur und Lage der untersuchten SNPs (Die Leserichtung geht vom 5' zum 3' Ende. Schwarze Rechtecke stellen Exons, die verbindenden Linien die Introns dar. Die vertikalen Pfeile stellen die Position der darunter angegebenen SNPs dar (nach NCBI 2015, GRCh38.p2).

Es sind 18 von 21 untersuchten Polymorphismen in Intron Abschnitten lokalisiert und die drei SNPs rs6275, rs6277 und rs1801028 in Exon 7. Neben der intronischen / exonischen Lage ist der relative Abstand jedes SNPs zum Genanfang angegeben, der sich aus dem Abstand von Promotor und absoluter SNP-Position auf dem Chromosom herleitet.

Der SNP rs6275 liegt an Position 62524 der DRD2-Gensequenz und codiert die Aminosäure an Position 284 bzw. 313 der Aminosäure-Sequenz (in Abhängigkeit des Transkripts). Beide SNP-Allele, T und C, codieren die dritte Base der Aminosäure Histidin und sind somit in Bezug auf die Aminosäure-Sequenz synonym.

Der SNP rs6277 liegt an Position 62948 der Gensequenz und codiert die Aminosäure an Position 290 bzw. 319 der Aminosäure-Sequenz. Beide Allele, C und T, codieren synonym für die dritte Base der Aminosäure Prolin.

Der SNP rs1801028 (Ser311Cys) liegt an Position 62517 des DRD2 Gens. Mögliche Allelvarianten sind Cytosin und Guanin (C > G). Der G-Polymorphismus verursacht eine Änderung der mRNA von TCC zu TGC und dadurch eine missense Mutation der Aminosäure Serin (Allel C, TCC) zu Cystein (Allel G, TGC). Die Position liegt in Abhängigkeit von der Isoform an Stelle 282 (D_{2S}) bzw. 311 (D_{2L}) der Aminosäurekette.

Die Angaben wurden der Datenbank des *National Center for Biotechnology Information NCBI* (Tatusova et al., 2014) entnommen. Alle Angaben entsprechen der Fassung von 2015 (*Genome Reference Consortium Human Build 38 patch release 2, GRCh38.p2*).

Die absolute Position aller SNPs wird durch den Basenabstand vom telomeren Ende des kleinen Arms von Chromosom 11 beschrieben (siehe Tabelle 3-3).

Minore Allelfrequenz

Jeder SNP besitzt zwei Allel-Varianten, A und a, die sich zu den Genotypen AA, Aa und aa rekombinieren lassen. Die Allele treten dabei in der Bevölkerung mit unterschiedlicher Häufigkeit auf, das seltener auftretende Allel (a) wird als minores

Tabelle 3-3: SNP-Charakteristika (Position, Genotyp, minore Allelfrequenz und Hardy-Weinberg Gleichgewicht) der 21 untersuchten SNPs des DRD2-Gens auf Chromosom 11

SNP	Position	Lage	Allel	Fall-Kontroll-Kollektiv						Endophänotyp-Kollektiv				
				Genotyp (Anzahl)			HWE	MAF		Genotyp (Anzahl)			HWE	MAF
			A	a	AA	Aa	aa			AA	Aa	aa		
rs2734841	113.411.054	Intron 7	G	T	1503	1367	298	0,65	0,31	416	354	84	0,52	0,31
rs1124492	113.411.553	Intron 7	C	A	2538	639	39	0,93	0,11	701	160	10	0,72	0,10
rs6277	113.412.737	Exon 7	T	C	837	1486	650	0,85	0,47	238	385	189	0,18	0,47
rs6275	113.412.755	Exon 7	C	T	1419	1270	276	0,76	0,31	399	336	77	0,62	0,30
rs1801028	113.412.762	Exon 7	C	G	2962	136	2	0,67	0,02	811	26	0	1,00	0,02
rs2283265	113.414.814	Intron 5	G	T	2281	854	85	0,65	0,16	615	231	25	0,53	0,16
rs2440390	113.416.156	Intron 4	C	T	2411	731	57	0,82	0,13	644	207	18	0,78	0,14
rs1079727	113.418.460	Intron 2	A	G	2291	822	84	0,31	0,16	617	228	25	0,45	0,16
rs7350522	113.434.481	Intron 1	G	T	2295	865	84	0,79	0,16	613	237	25	0,71	0,16
rs4587762	113.436.171	Intron 1	A	G	1116	1497	543	0,29	0,41	312	391	152	0,14	0,41
rs4586205	113.436.407	Intron 1	T	G	1806	1238	203	0,68	0,25	494	334	49	0,47	0,25
rs17115583	113.438.180	Intron 1	G	A	2541	661	43	1,00	0,12	699	169	10	1,00	0,11
rs4648318	113.442.667	Intron 1	A	G	1805	1243	197	0,40	0,25	495	334	48	0,41	0,25
rs4648319	113.443.641	Intron 1	C	T	2297	862	84	0,74	0,16	617	234	25	0,62	0,16
rs12574471	113.445.514	Intron 1	C	T	2449	727	53	1,00	0,13	657	205	15	1,00	0,13
rs4274224	113.448.730	Intron 1	A	G	909	1590	720	0,62	0,47	243	423	204	0,46	0,48
rs4460839	113.451.074	Intron 1	T	C	2615	558	28	0,84	0,10	703	151	9	0,70	0,10
rs7122454	113.456.746	Intron 1	G	C	2404	766	64	0,71	0,14	649	213	14	0,57	0,14
rs7131056	113.459.052	Intron 1	C	A	1008	1570	621	0,83	0,44	285	405	178	0,13	0,44
rs10891552	113.462.949	Intron 1	A	T	3073	161	2	1,00	0,03	821	51	2	0,21	0,03
rs11214613	113.464.537	Intron 1	G	A	2684	529	28	0,75	0,09	725	143	8	0,68	0,09

HWE = Hardy-Weinberg-Gleichgewicht, MAF = minore Allelfrequenz

Tabelle 3-3 aufgeführt. Als *minore* oder *minimale Allelfrequenz* (*Minor allele frequency*, MAF) wird die Häufigkeit bezeichnet, mit der das seltenere Allel in einer Population auftritt. Je höher die MAF ist, desto geringer ist die Möglichkeit einer Ergebnisverzerrung durch zu viele falsch-positiven Werte. Die MAF der in der vorliegenden Studie einbezogenen SNPs entspricht in allen Fällen weitgehend den Vorgaben aus weltweiten Vergleichspopulationen (HapMap, 2003).

Hardy-Weinberg-Gleichgewicht

Das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (Hardy-Weinberg Equilibrium, HWE) ist ein mathematisches Konstrukt zur Vorhersage von Allel-Verteilungen in einer idealen Population. Die tatsächliche Genotypenverteilung wird mit den theoretischen Werten des HWE auf Plausibilität abgeglichen und als p -Wert wiedergegeben. Alle Genotypfrequenzen folgten dem HWE in beiden Stichproben ($p > 0,05$), mit Ausnahme von rs10891552 in der Fallgruppe der Endophänotyp-Stichprobe ($p = 0,038$, nicht abgebildet). Die einzelnen p -Werte sind in Tabelle 3-3 ersichtlich.

3.2 Assoziation mit Schizophrenie

Um eine Assoziation der untersuchten Polymorphismen mit Schizophrenie herzustellen, wurde die Verteilung der SNP-Allele zwischen Gesunden und erkrankten Patienten untersucht. Zudem wurde die Verteilung der Genotypen für mehrere Rechenmodelle getestet.

Allel-Verteilung

Es wird die Häufigkeit verglichen, mit der das Allel der selteneren Variante (a) bei Gesunden und schizophrenen Patienten auftritt (siehe Tabelle 3-4, S. 85).

Das seltenere Allel des SNPs rs1801028 (G; C > G) trat bei schizophrenen Patienten signifikant seltener auf ($\chi^2 = 4,3$; $df = 1$; $p = 0,039$). Das Allel fand sich bei 1,64% der erkrankten Teilnehmer und bei 2,50% der gesunden Teilnehmer. Es handelt sich bei dem SNP um den Ser311Cys Polymorphismus, der eine missense Mutation verursacht.

Die seltenere Variante des SNPs rs1079727 (G; A > G) trat bei Patienten mit einem Trend zur Signifikanz häufiger auf ($\chi^2 = 3,1$; $df = 1$; $p = 0,078$). Das G-Allel fand sich bei 16,7% der schizophrenen Patienten und bei 15,0% der Gesunden.

Die seltenere Variante des SNPs rs4587762 (G; A > G) fand sich ebenfalls tendenziell gehäuft bei schizophrenen Patienten ($\chi^2 = 3,3$; $df = 1$; $p = 0,069$). Das G-Allel fand sich bei 42,7% der erkrankten Teilnehmer und bei 40,2% der gesunden Teilnehmer.

Die p -Werte der Allelverteilung in Relation zur genomischen Lage sind in Abbildung 3-2 (S. 86) graphisch dargestellt.

Tabelle 3-4: Allelverteilung der Polymorphismen bei Patienten und Kontrollen

SNP	Allel		Allelverteilung A / a		Minore Allelfrequenz		χ^2	p-Wert
	A	a	Pat (n)	Kon (n)	Pat (%)	Kon (%)		
rs2734841	G	T	1238 / 566	3135 / 1397	0,314	0,308	0,2	0,670
rs1124492	C	A	1640 / 206	4075 / 511	0,112	0,111	0,0	0,985
rs6277	T	C	968 / 890	2192 / 1896	0,479	0,464	1,2	0,276
rs6275	C	T	1290 / 570	2818 / 1252	0,306	0,308	0,0	0,928
rs1801028	C	G	1737 / 29	4323 / 111	0,016	0,025	4,2	0,039
rs2283265	G	T	1539 / 311	3877 / 713	0,168	0,155	1,6	0,205
rs2440390	C	T	1579 / 245	3974 / 600	0,134	0,131	0,1	0,737
rs1079727	A	G	1527 / 307	3877 / 683	0,167	0,150	3,1	0,078
rs7350522	G	T	1535 / 315	3920 / 718	0,170	0,155	2,4	0,124
rs4587762	A	G	1036 / 772	2693 / 1811	0,427	0,402	3,3	0,069
rs4586205	T	G	1376 / 484	3474 / 1160	0,260	0,250	0,7	0,407
rs17115583	G	A	1641 / 217	4102 / 530	0,117	0,114	0,1	0,787
rs4648318	A	G	1370 / 484	3483 / 1153	0,261	0,249	1,1	0,301
rs4648319	C	T	1534 / 312	3922 / 718	0,169	0,155	2	0,156
rs12574471	C	T	1594 / 250	4031 / 583	0,136	0,126	1,0	0,318
rs4274224	A	G	990 / 852	2418 / 2178	0,463	0,474	0,7	0,410
rs4460839	T	C	1642 / 190	4146 / 424	0,104	0,093	1,8	0,179
rs7122454	G	C	1600 / 254	3974 / 640	0,137	0,139	0,0	0,857
rs7131056	C	A	1007 / 819	2579 / 1993	0,449	0,436	0,8	0,359
rs10891552	A	T	1799 / 47	4508 / 118	0,025	0,026	0,0	0,991
rs11214613	G	A	1672 / 176	4225 / 409	0,095	0,088	0,8	0,376

Pat = Patient, Kon = Kontrolle, n = Anzahl, df = 1

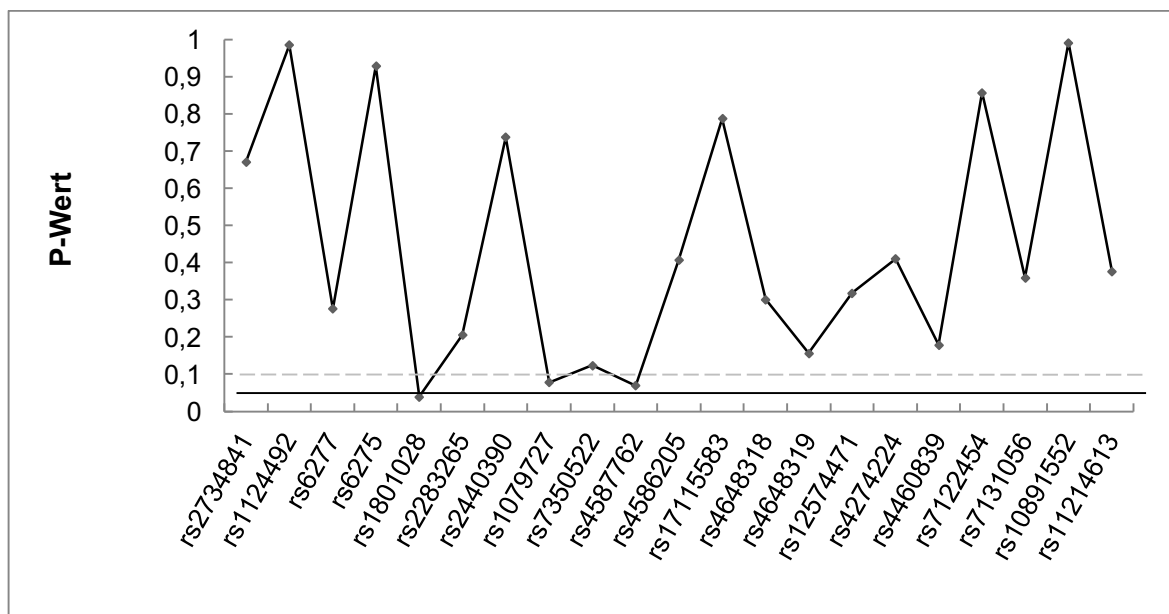


Abbildung 3-2: p-Werte der Allel-Verteilung in Relation zur genomischen Position. Die durchgezogene Linie markiert die Schwelle zur Signifikanz ($p < 0,05$), die gestrichelte Linie die Schwelle zum Trend ($p < 0,1$). Der SNP rs1801028 zeigt eine signifikante Assoziation mit Schizophrenie. Die SNPs rs1079727 und rs4587762 zeigten einen Trend zur Signifikanz.

Genotypverteilung

Für jeden untersuchten Marker wurde die Genotypverteilung zwischen Gesunden und Erkrankten auf eine Assoziation mit Schizophrenie getestet (Tabelle 3-6, S. 87).

Die Genotypverteilung des SNP rs10891552 (T; A > T) in Tabelle 3-5 zeigt ein tendenziell gehäuftes Auftreten des Genotyps TT bei kranken Kontrollprobanden ($\chi^2 = 5,3$; $df = 1$; $p = 0,072$). Das minore Allel ist nur selten in der Bevölkerung vertreten (MAF = 0,03).

Tabelle 3-5: Genotypverteilung des SNP rs10891552

rs10891552							
	Genoytp AA		Genotyp AT		Genotyp TT		Gesamt n
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	
Kon	2195	94,90%	118	5,10%	0	0%	2313
Pat	878	95,10%	43	4,60%	2	0,20%	923
Gesamt	3073	95,00%	161	5,00%	2	0,10%	3236

Pat = Patient, Kon = Kontrolle, n = Anzahl

Tabelle 3-6: Genotypverteilung der Polymorphismen bei Patienten und Kontrollen

SNP	Allel		Genotypverteilung AA / Aa / aa		χ^2	p-Wert
	A	a	Pat (n)	Kon (n)		
rs2734841	G	T	426 / 386 / 90	1077 / 981 / 208	0,5	0,784
rs1124492	C	A	731 / 178 / 14	1807 / 461 / 25	1,2	0,543
rs6277	T	C	252 / 464 / 213	585 / 1022 / 437	1,2	0,547
rs6275	C	T	448 / 394 / 88	971 / 876 / 118	0,1	0,936
rs1801028	C	G	855 / 27 / 1	2107 / 109 / 1	2,0	0,370
rs2283265	G	T	639 / 261 / 25	1642 / 593 / 60	2,0	0,370
rs2440390	C	T	683 / 213 / 16	1728 / 518 / 41	0,2	0,911
rs1079727	A	G	637 / 253 / 27	1654 / 569 / 57	3,1	0,210
rs7350522	G	T	636 / 263 / 26	1659 / 602 / 58	2,5	0,289
rs4587762	A	G	296 / 444 / 164	820 / 1053 / 379	3,9	0,145
rs4586205	T	G	506 / 364 / 60	1300 / 874 / 143	0,8	0,678
rs17115583	G	A	726 / 189 / 14	1815 / 472 / 29	0,3	0,848
rs4648318	A	G	501 / 368 / 58	1304 / 875 / 139	1,3	0,519
rs4648319	C	T	635 / 264 / 24	1662 / 598 / 60	2,7	0,254
rs12574471	C	T	689 / 216 / 17	1760 / 511 / 36	1,0	0,603
rs4274224	A	G	263 / 464 / 194	646 / 1126 / 526	1,3	0,528
rs4460839	T	C	735 / 172 / 9	1880 / 386 / 19	1,8	0,400
rs7122454	G	C	695 / 210 / 22	1709 / 556 / 42	1,7	0,433
rs7131056	C	A	278 / 451 / 184	730 / 1119 / 437	0,8	0,656
rs10891552	A	T	878 / 43 / 2	2195 / 118 / 0	5,3	0,072
rs11214613	G	A	756 / 160 / 8	1928 / 369 / 20	0,9	0,626

Pat = Patient, Kon = Kontrolle, n = Anzahl, df = 1

Verteilung bei dominanten und rezessiven genetischen Modellen

Bei dominant / rezessiven genetischen Modellen wird der Einfluss des Allels auf den Phänotyp analysiert, wenn der Träger bezüglich des Allels heterozygot ist. Ein dominantes Allel allein führt bei heterozygoten Trägern dennoch zur vollen Krankheitsausprägung. Ein rezessives Allel bleibt bei heterozygoten Trägern unauffällig und die Person bleibt gesund (es braucht beide Allele zur Krankheitsausprägung).

Im dominanten Modell wurden den Trägern der homozygoten Variante mit Genotyp aa die heterozygoten Träger mit Genotyp Aa zugerechnet (aa + Aa) und diese den homozygoten Trägern des Wildtyps mit Genotyp AA gegenübergestellt. Im rezessiven Modell wurden den Trägern der homozygoten Variante mit Genotyp

aa die Summe der heterozygoten Träger mit Genotyp Aa und der homozygoten Träger mit Wildtyp AA (Aa + AA) gegenübergestellt (siehe Tabelle 3-7).

Im dominanten Rechenmodell war das seltenere Allel des Markers rs1801028 (G; C > G) signifikant häufiger bei gesunden Probanden vertreten ($\chi^2 = 4,760$; $df = 1$; $p = 0,029$). Die Frequenz der kombinierten Genotypen GC + GG war in der Kontrollgruppe höher als in der Patientengruppe (5,2% vs. 3,3%).

Das seltenere Allel des Markers rs1079727 (G; A > G) mit tendenziell mit Schizophrenie assoziiert ($\chi^2 = 0,505$; $df = 1$; $p = 0,081$). Die Frequenz der kombinierten Genotypen GA + GG war in der Patientengruppe höher als in der Kontrollgruppe (30,5% vs. 27,5%).

Gleiches galt für das seltenere Allel des SNPs rs4587762 (G; A > G). Hier zeigte sich ebenfalls ein Trend zur Assoziation mit Schizophrenie ($\chi^2 = 0,780$; $df = 1$; $p = 0,051$). Die Frequenz der kombinierten Genotypen GG + GA war bei Patienten im Vergleich zu gesunden Teilnehmern erhöht (67,3% vs. 63,6%).

Tabelle 3-7: Allelverteilung der Polymorphismen im dominant / rezessiven Modell

SNP	Allel		dominant (aa + Aa / AA)			rezessiv (aa / Aa + AA)		
	a	A	Pat (n)	Kon (n)	p-Wert	Pat (n)	Kon (n)	p-Wert
rs2734841	T	G	476 / 426	1189 / 1077	0,879	90 / 812	208 / 2058	0,487
rs1124492	A	C	192 / 731	486 / 1807	0,805	14 / 909	25 / 2268	0,318
rs6277	C	T	677 / 252	1459 / 585	0,401	213 / 716	437 / 1607	0,344
rs6275	T	C	482 / 448	1064 / 971	0,817	88 / 842	188 / 1847	0,846
rs1801028	G	C	28 / 855	110 / 2107	0,029	1 / 882	1 / 2216	0,500
rs2283265	T	G	286 / 639	653 / 1642	0,164	25 / 900	60 / 2235	0,888
rs2440390	T	C	229 / 683	559 / 1728	0,693	16 / 896	41 / 2246	0,941
rs1079727	G	A	280 / 637	626 / 1654	0,081	27 / 890	57 / 2223	0,477
rs7350522	T	G	289 / 636	660 / 1659	0,116	26 / 899	58 / 2261	0,616
rs4587762	G	A	608 / 296	1432 / 820	0,051	164 / 740	379 / 1873	0,377
rs4586205	G	T	424 / 506	1017 / 1300	0,379	60 / 870	143 / 2174	0,766
rs17115583	A	G	203 / 726	501 / 1815	0,891	14 / 915	29 / 2287	0,566
rs4648318	G	A	426 / 501	1014 / 1304	0,252	58 / 869	139 / 2179	0,779
rs4648319	T	C	288 / 635	658 / 1662	0,108	24 / 899	60 / 2260	0,982
rs12574471	T	C	233 / 689	547 / 1760	0,349	17 / 905	36 / 2271	0,567
rs4274224	G	A	658 / 263	1652 / 646	0,800	194 / 727	526 / 1772	0,261
rs4460839	C	T	181 / 735	405 / 1880	0,178	9 / 907	19 / 2266	0,678
rs7122454	C	G	232 / 695	598 / 1709	0,599	22 / 905	42 / 2265	0,308
rs7131056	A	C	635 / 278	1556 / 730	0,414	184 / 729	437 / 1849	0,503
rs10891552	T	A	45 / 878	118 / 2195	0,791	2 / 921	0 / 2313	0,025
rs11214613	A	G	168 / 756	389 / 1928	0,343	8 / 916	20 / 2297	0,994

Pat = Patient, Kon = Kontrolle, n = Anzahl, df = 2

Im rezessiven Rechenmodell war das seltenere Allel des Markers rs10891552 (T; A > T) signifikant häufiger bei schizophrenen Patienten vertreten ($\chi^2 = 5,015$; $df = 1$; $p = 0,025$). Die Frequenz des Genotypen AA war in der Patientengruppe höher (0,2% vs. 0,0%).

Einen Überblick über die Assoziation der SNPs im dominant / rezessiven Rechenmodell (p -Wert) in Relation zur genomischen Lage der SNPs gibt Abbildung 3-3.

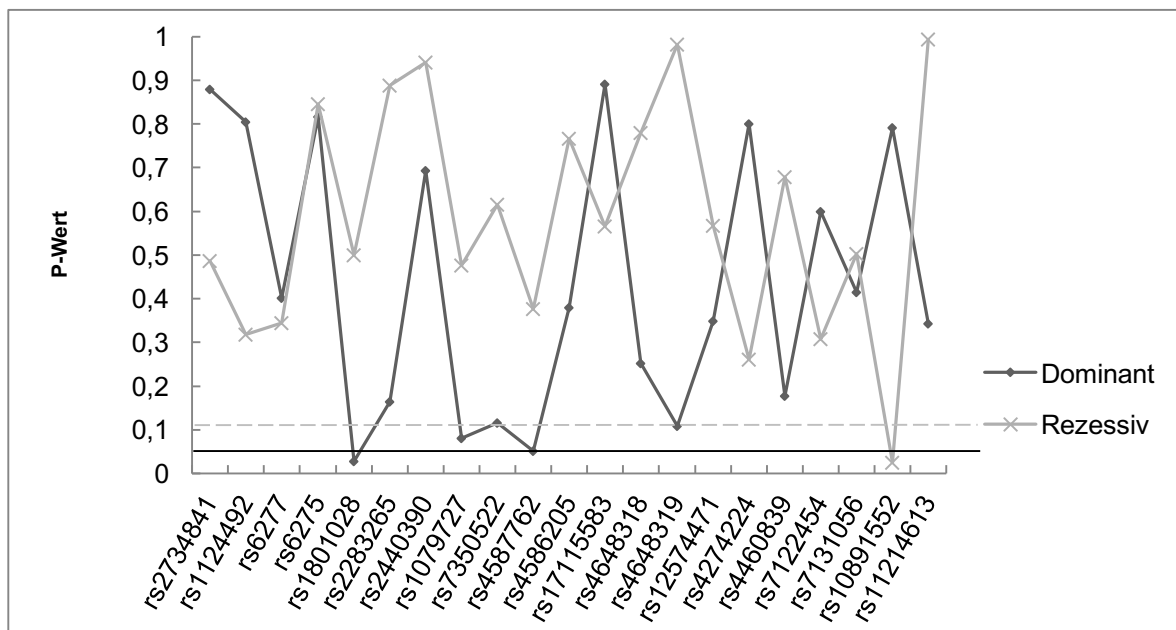


Abbildung 3-3: P-Werte der Testung auf dominant / rezessive-Verteilung in Relation zur genomischen Position. Die durchgezogene Linie markiert die Schwelle zur Signifikanz ($p < 0,05$), die gestrichelte Linie die Schwelle zum Trend ($p < 0,1$). Der SNP rs1801028 zeigt im dominanten Modell eine signifikante Assoziation, der SNP rs10891552 im rezessiven Modell. Die SNPs rs1079727 und rs4587762 zeigen im dominanten Modell einen Trend zur Signifikanz.

3.3 Assoziation mit dem Endophänotyp Gedächtnisleistung

Der (Endo)-Phänotyp Gedächtnisleistung wurde bei einer Subgruppe der Gesamtstichprobe erfasst. Dazu wurden die Probanden einer Testung durch die WMS-R unterzogen, die in 13 Einzeltests fünf Gesamtbereiche des Gedächtnisses abbildet. Die Genotypen der 21 untersuchten SNPs wurden auf eine Assoziation mit dem Abschneiden der Teilnehmer im WMS-R verglichen.

Die im WMS-R bestimmbaren Hauptkategorien sind: verbales, visuelles, allgemeines und verzögertes Gedächtnis, sowie Aufmerksamkeit / Konzentration (vgl. Kapitel 2.4.2). Einen zusammenfassenden Überblick über die Assoziation von Genotypen und Testergebnissen liefert Tabelle 3-7 (S. 92 und 93).

Visuelles Gedächtnis

Die Genotypverteilung des Markers rs7131056 wies eine signifikante Assoziation zur Hauptkategorie visuelles Gedächtnis auf (Abbildung 3-4).

Für den SNP rs7131056 ($C > A$) erzielten Träger des C-Allels bessere Ergebnisse beim visuellen Gedächtnis im WMS-R ($F = 0,379$; $df = 2 / 868$; $p = 0,024$). Homozygote Träger mit Genotyp CC schnitten dabei am besten ab und Homozygote Träger mit Genotyp AA am schlechtesten. Das SNP-Allel A scheint daher mit Defiziten beim visuellen Gedächtnis assoziiert zu sein.

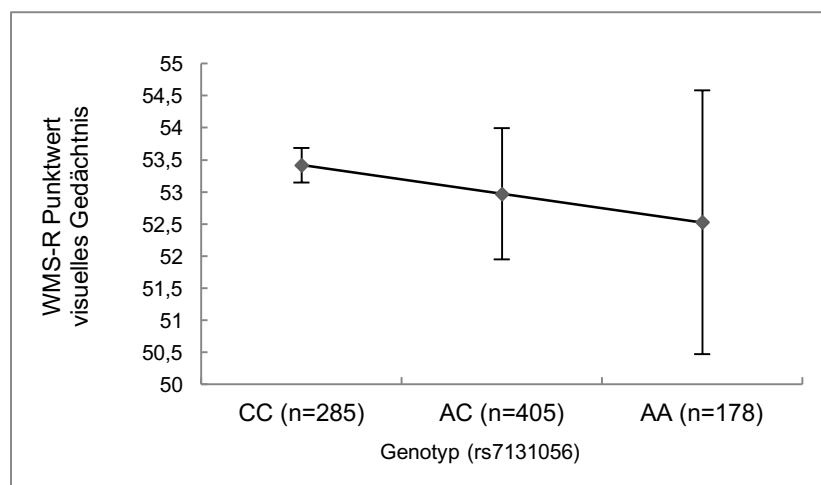


Abbildung 3-4: Punktwerte in der Kategorie visuelles Gedächtnis für die Genotypen des signifikanten Marker rs7131056. Aufgeführt sind jeweils adjustierter Mittelwert \pm Standardfehler. Der Genotyp CC ist mit den höchsten, der Genotyp AA mit den niedrigsten Punktwerten assoziiert

Aufmerksamkeit / Konzentration

Die SNPs rs7350522 sowie rs4648319 wiesen eine signifikante Assoziation in der Hauptkategorie Aufmerksamkeit / Konzentration auf (Abbildung 3-5).

Für den Marker rs7350522 ($C > T$) erreichten Probanden mit Genotyp GG die höchsten Punktwerte und Probanden mit Genotyp TT die niedrigsten Werte ($F = 0,679$; $df = 2 / 875$; $p = 0,043$). Der Genotyp GG scheint somit mit besseren Aufmerksamkeits- / Konzentrationsleistungen einher zu gehen, wohingegen der Genotyp TT mit schlechteren Leistungen verbunden ist. Das T-Allel scheint daher mit kognitiven Defiziten bei Aufmerksamkeit / Konzentration im WMS-R assoziiert zu sein.

Für den Polymorphismus rs4648319 ($C > T$) erzielten Personen des Genotyps CC die meisten Punkte und Personen des Genotyps TT die wenigsten Punkte ($F =$

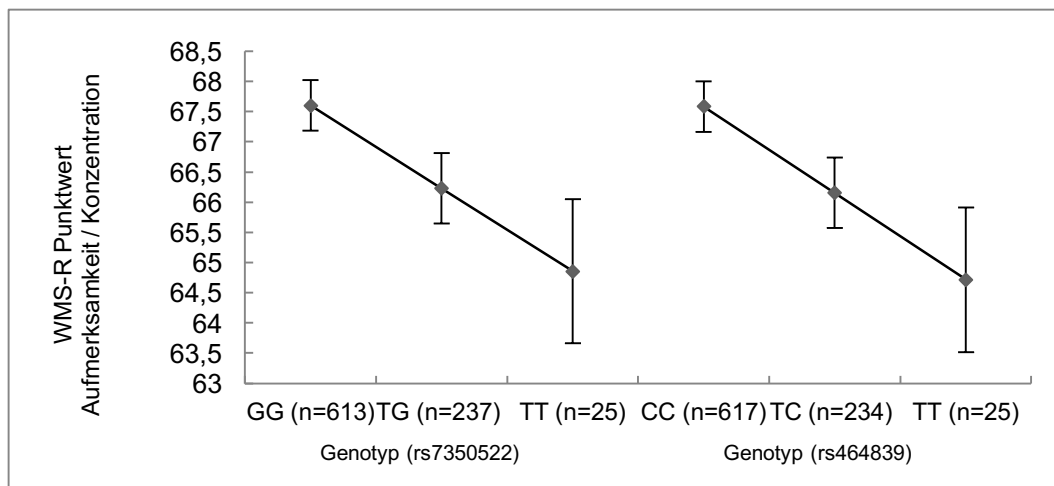


Abbildung 3-5: Punktwerte in der Kategorie Aufmerksamkeit / Konzentration für die Genotypen der signifikanten Marker rs7350522 und rs4648319. Aufgeführt sind jeweils adjustierter Mittelwert \pm Standardfehler. Die Genotypen GG und CC sind mit den höchsten, die Genotypen TT mit den niedrigsten Punktwerten assoziiert.

0,682; $df = 2 / 876$; $p = 0,036$). Der Genotyp CC ist möglicherweise mit besseren und Genotyp TT mit schlechteren Aufmerksamkeits- / Konzentrationsleistungen assoziiert. Das T-Allel scheint daher mit kognitiven Defiziten bei Aufmerksamkeit / Konzentration im WMS-R assoziiert zu sein.

Die SNPs rs2283265 und rs1079727 zeigten einen Trend zur Signifikanz mit der Kategorie Aufmerksamkeit / Konzentration (Abbildung 3-6).

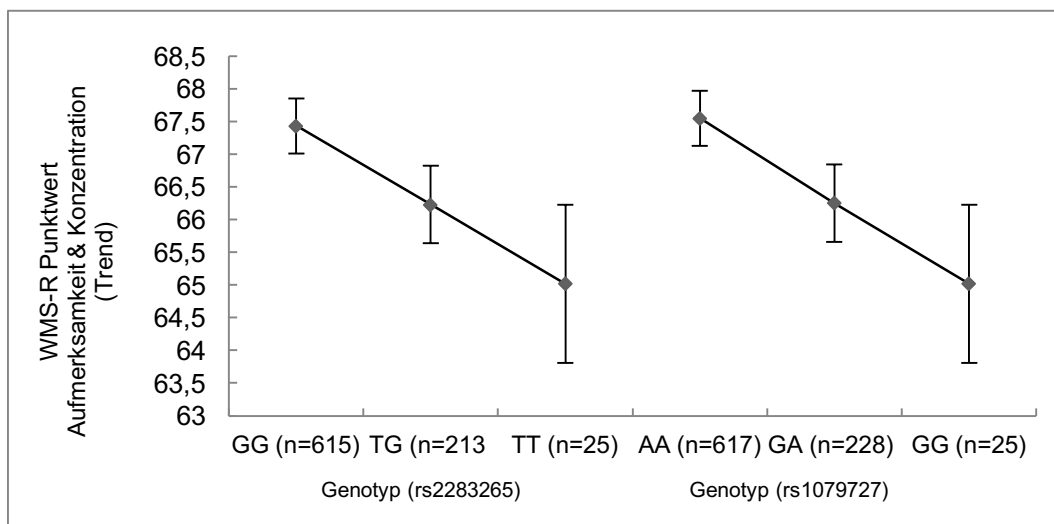


Abbildung 3-6: Punktwerte in der Kategorie Aufmerksamkeit / Konzentration für die Genotypen der tendenziell signifikanten Marker rs2283265 und rs1079727. Aufgeführt sind jeweils adjustierter Mittelwert \pm Standardfehler. Die Genotypen GG und AA sind mit den höchsten, die Genotypen TT und GG mit den niedrigsten Punktwerten assoziiert.

Für den SNP rs2283265 ($G > T$) findet sich ein Trend zur signifikanten Assoziation ($F = 0,686$; $df = 2 / 871$; $p = 0,079$). Dabei erreichten Probanden mit Genotyp GG die höchsten Punktwerte und Probanden mit Genotyp TT die niedrigsten Werte.

Tabelle 3-7: Assoziation mit den Gesamtkategorien der WMS-R Gedächtnistestung

WMS-R Kategorie	aMW ± SE	SNPs des DRD2 Gens mit Genotyp																				
		rs6275			rs6277			rs1079727			rs1124492			rs1801028			rs2283265			rs2440390		
		C/C	T/C	T/T	T/T	C/T	C/C	A/A	G/A	G/G	C/C	A/C	A/A	C/C	G/C	G/G	G/G	T/G	T/T	C/C	T/C	T/T
Verbales Gedächtnis	77,7 ± 1,2	77,6	77,2	76,9	77,7	77,4	77,1	77,9	77,4	77,0	78,0	76,8	75,6	78,1	77,7	77,3	77,8	77,8	77,7	77,6	78,5	79,3
		F = 0,849, p = 0,645			F = 0,768, p = 0,728			F = 1,004, p = 0,662			F = 1,230, p = 0,317			F = 3,119, p = 0,904			F = 1,012, p = 0,943			F = 1,074, p = 0,416		
Visuelles Gedächtnis	53,3 ± 0,6	53,0	53,4	53,8	53,4	53,3	53,1	53,6	53,0	52,3	53,3	53,8	54,4	53,5	53,5	53,4	53,6	53,0	52,5	53,5	53,1	52,8
		F = 0,427, p = 0,335			F = 0,383, p = 0,776			F = 0,506, p = 0,211			F = 0,607, p = 0,376			F = 1,533, p = 0,978			F = 0,503, p = 0,274			F = 0,541, p = 0,549		
Allgemeines Gedächtnis	130,9 ± 1,6	130,6	130,6	130,7	131,0	130,7	130,3	131,5	130,4	129,3	131,4	130,7	130,0	131,6	131,2	130,7	131,4	130,8	130,2	131,1	131,6	132,2
		F = 1,087, p = 0,991			F = 0,981, p = 0,696			F = 1,285, p = 0,407			F = 1,570, p = 0,654			F = 3,963, p = 0,915			F = 1,292, p = 0,633			F = 1,375, p = 0,692		
Aufmerksamkeit/ Konzentration	66,9 ± 0,8	66,9	66,9	66,9	67,6	66,8	66,1	67,5	66,3	65,0	67,0	67,3	67,7	67,1	68,8	70,4	67,4	66,2	65,0	67,1	67,1	67,1
		F = 0,572, p = 0,944			F = 0,51, p = 0,166			F = 0,686, p = 0,060			F = 0,834, p = 0,685			F = 2,119, p = 0,439			F = 0,686, p = 0,079			F = 0,734, p = 0,995		
Verzögerte Wiedergabe	87,1 ± 1,1	86,5	86,9	87,2	86,7	86,8	86,8	87,4	86,7	86,0	87,2	87,4	87,6	87,5	88,6	89,8	87,4	87,1	86,8	87,2	87,4	87,7
		F = 0,758, p = 0,651			F = 0,682, p = 0,927			F = 0,885, p = 0,413			F = 1,085, p = 0,862			F = 2,735, p = 0,675			F = 0,894, p = 0,759			F = 0,951, p = 0,790		

WMS-R Kategorie	aMW ± SE	SNPs des DRD2 Gens mit Genotyp																				
		rs2734841			rs4274224			rs4460839			rs4586205			rs4587762			rs4648318			rs4648319		
		G/G	T/G	T/T	A/A	G/A	G/G	T/T	C/T	C/C	T/T	G/T	G/G	A/A	G/A	G/G	A/A	G/A	G/G	C/C	T/C	T/T
Verbales Gedächtnis	77,7 ± 1,2	77,8	77,8	77,8	78,1	77,8	77,5	77,9	77,9	77,8	77,8	77,8	77,7	78,1	77,7	77,3	78,0	77,6	77,2	77,9	77,7	77,5
		F = 0,814, p = 0,963			F = 0,737, p = 0,713			F = 1,267, p = 0,977			F = 0,873, p = 0,930			F = 0,751, p = 0,599			F = 0,881, p = 0,630			F = 1,007, p = 0,839		
Visuelles Gedächtnis	53,3 ± 0,6	53,1	53,6	54,0	53,1	53,4	53,7	53,6	52,7	51,7	53,3	53,4	53,6	53,6	53,4	53,1	53,3	53,5	53,6	53,6	52,9	52,3
		F = 0,408, p = 0,277			F = 0,372, p = 0,377			F = 0,626, p = 0,129			F = 0,440, p = 0,785			F = 0,373, p = 0,509			F = 0,441, p = 0,691			F = 0,502, p = 0,193		
Allgemeines Gedächtnis	130,9 ± 1,6	131,0	131,4	131,8	131,1	131,2	131,3	131,5	130,5	129,5	131,2	131,2	131,2	131,7	131,1	130,5	131,3	131,1	130,8	131,5	130,6	129,8
		F = 1,044, p = 0,705			F = 0,944, p = 0,995			F = 1,616, p = 0,539			F = 1,119, p = 0,975			F = 0,959, p = 0,502			F = 1,126, p = 0,819			F = 1,287, p = 0,507		
Aufmerksamkeit/ Konzentration	66,9 ± 0,8	67,2	67,0	66,8	67,9	67,1	66,3	67,3	66,3	65,3	67,1	67,2	67,2	67,6	66,9	66,2	67,1	67,2	67,2	67,6	66,2	64,7
		F = 0,556, p = 0,702			F = 0,505, p = 0,109			F = 0,860, p = 0,240			F = 0,599, p = 0,933			F = 0,509, p = 0,159			F = 0,600, p = 0,921			F = 0,682, p = 0,036		
Verzögerte Wiedergabe	87,1 ± 1,1	86,9	87,5	88,1	86,8	87,3	87,8	87,5	87,0	86,5	87,1	87,3	87,6	87,4	87,2	87,1	87,2	87,3	87,3	87,3	87,0	86,7
		F = 0,723, p = 0,405			F = 0,652, p = 0,473			F = 1,115 p = 0,665			F = 0,775, p = 0,733			F = 0,665, p = 0,790			F = 0,780, p = 0,927			F = 0,891, p = 0,728		

aMW = adjustierter Mittelwert, SE = Standardfehler

Tabelle 3-7: Assoziation mit den Gesamtkategorien der WMS-R Gedächtnistestung

WMS-R Kategorie	aMW ± SE	SNPs des DRD2 Gens mit Genotyp																				
		rs7122454		rs7131056		rs7350522		rs10891552		rs11214613		rs12574471		rs17115583								
		G / G	C / G	C / C	C / C	A / C	A / A	G / G	T / G	T / T	A / A	T / A	T / T	G / G	A / G	A / A	C / C	T / C	T / T	G / G	A / G	A / A
Verbales Gedächtnis	77,7 ± 1,2	78,0	77,6	77,2	77,9	76,9	75,9	78,1	77,7	77,2	77,6	78,7	79,8	77,4	77,9	78,4	77,8	77,8	77,8	78,1	77,0	75,9
		F =1,096, p =0,724			F =0,737, p =0,534			F =0,998, p =0,658			F = 2,100, p =0,641			F =1,293, p =0,403			F = 1,095, p =0,977			F =1,200, p =0,374		
Visuelles Gedächtnis	53,3 ± 0,6	53,4	53,4	53,5	53,4	53	52,5	53,6	52,9	52,3	53,5	53,0	52,6	54,1	53,3	52,4	53,5	53,1	52,6	53,3	53,8	54,4
		F =0,550, p =0,924			F =0,370, p =0,024			F =0,502, p =0,174			F =1,053, p =0,673			F =0,647, p =0,472			F =0,551, p =0,437			F =0,604, p =0,353		
Allgemeines Gedächtnis	130,9 ± 1,6	131,4	131,1	130,7	131,3	129,9	128,5	131,7	130,6	129,5	131,1	131,7	132,4	131,5	131,2	130,8	131,3	130,9	130,4	131,3	130,8	130,3
		F =1,403, p =0,815			F =0,944, p =0,691			F = 1,277, p =0,381			F =2,687, p =0,595			F =1,654, p =0,711			F =1,402, p =0,740			F =1,537, p =0,737		
Aufmerksamkeit Konzentration	/ 66,9 ± 0,8	67,2	67,1	67,0	67,1	66,7	66,3	67,6	66,2	64,9	67,3	66,6	66,0	66,8	67,1	67,5	67,2	66,9	66,6	67,1	67,1	67,2
		F =0,748, p =0,919			F =0,503, p =0,452			F =0,679, p =0,043			F =1,42, p =0,765			F =0,881, p =0,462			F = 0,750, p =0,706			F =0,818, p =0,953		
Verzögerte Wiedergabe	87,1 ± 1,1	87,5	86,6	85,6	87,4	85,2	83,1	87,6	86,7	85,8	87,1	87,8	88,5	87,5	87,2	86,9	87,3	86,8	86,4	87,1	87,6	88,0
		F =0,970, p =0,310			F =0,654, p=0,623			F =0,887, p =0,321			F =1,859, p =0,246			F =1,146, p =0,555			F =0,970, p =0,616			F =1,065, p =0,686		

aMW = adjustierter Mittelwert, SE = Standardfehler

Der Genotyp GG scheint somit mit besseren Aufmerksamkeits- / Konzentrationsleistungen einher zu gehen, wohingegen der Genotyp TT mit schlechteren Leistungen verbunden ist.

Für den SNP rs1079727 (A > G) findet sich ebenfalls ein Trend ($F = 0,686$; $df = 2 / 870$; $p = 0,060$). So erzielten Personen des Genotyps CC die meisten Punkte und Personen des Genotyps TT die wenigsten Punkte. Der Genotyp AA ist möglicherweise mit besseren und Genotyp GG mit schlechteren Aufmerksamkeits- / Konzentrationsleistungen assoziiert.

Verbales Gedächtnis, allgemeines Gedächtnis und verzögertes Gedächtnis

In den drei Hauptkategorien verbales Gedächtnis, allgemeines Gedächtnis und verzögertes Gedächtnis des WMS-R ließen sich keine Assoziationen feststellen.

3.4 Haplotyp-Analyse des DRD2 Gens

3.4.1 Analyse der Blockstruktur

Die in dieser Arbeit analysierten Marker wurden jeweils paarweise auf das Vorhandensein eines Kopplungsungleichgewichts (LD) in der Endophänotyp-Gruppe geprüft. Die Haploview-Software hebt zwei Regionen mit hohem LD im DRD2 Gen hervor, die sogenannten Haploblöcke (Abbildung 3-7).

Block 1 umfasst 34 kb und enthält die in Leserichtung weiter distal gelegene Hälfte von Intron 1 bis einschließlich Exons 7 nahe dem 3'-Genende. Es sind 14 Marker verlinkt: rs2734841, rs1124492, rs6277, rs6275, rs2283265, rs2440390, rs1079727, rs7350522, rs4587762, rs17115583, rs4648318, rs4648319, und rs12574471. Einzig für den SNP rs1801028, der inmitten des Blocks liegt, ließ sich kein deutliches Kopplungsungleichgewicht mit den restlichen SNPs im Block feststellen, da SNPs mit einer MAF <1% nicht in die Berechnung mit einbezogen wurden.

Block 2 mit einer Länge von 13 kb enthält die vom 5'-Ende des DRD2 Gens die in Leserichtung proximal gelegene Hälfte von Intron 1. Es sind 4 SNPs verlinkt: rs4460839, rs7122454, rs7131056 und rs11214613.

Der SNP rs4274224 liegt in der Mitte von Intron 1 zwischen den beiden Blöcken und ließ sich keinem der beiden Blöcke zuordnen.

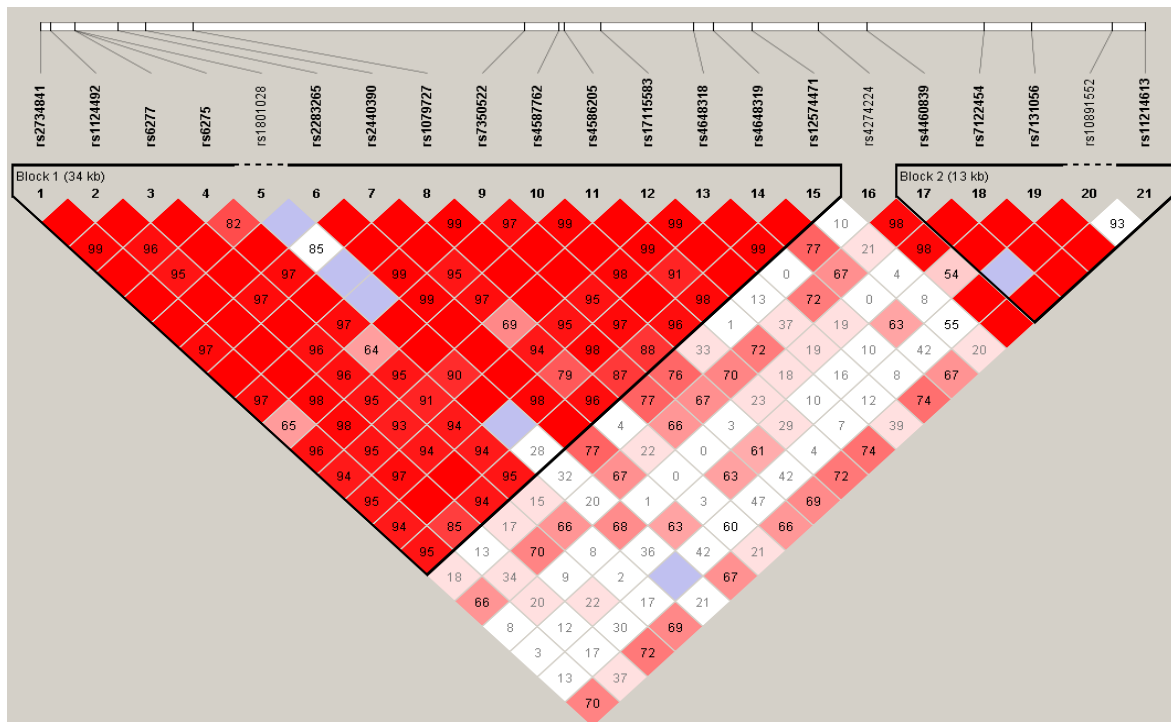


Abbildung 3-7: Blockstruktur der 21 SNPs des DRD 2 Gen

Das paarweise Kopplungsungleichgewicht (LD) zwischen allen SNPs wurde mit Haploview erstellt (Barrett et al., 2005). Die Zahl in jedem Kästchen entspricht dem D' -Wert jedes SNP-Paars. Kästchen ohne Zahl zeigen ein maximales LD von $D' = 1,0$. Die dicken schwarzen Linien umranden die beiden Haploblöcke. Orientierung von 3' nach 5' in Bezug auf das DRD2-Gen.

3.4.2 Analyse der Haplotypen auf Assoziation mit Gedächtnisleistung

Nachfolgend wurden die Haplotyp-Blöcke darauf hin untersucht, ob bestimmte Haplotypen überzufällig häufig mit geringerer kognitiver Leistung einhergingen. Das würde darauf hinweisen, dass die Allele des Blocks gemeinsam mit einer verminderten kognitiven Leistung, wie sie auch bei Patienten mit Schizophrenie gesehen wird, vererbt würden.

Signifikante Assoziationen zeigten sich für simulierte p -Werte in den Hauptkategorien visuelles Gedächtnis und Aufmerksamkeit / Konzentration, nicht jedoch für Kategorien allgemeines, verbales und verzögertes Gedächtnis.

Visuelles Gedächtnis

Die Haplo-Blöcke wurden auf eine Assoziation mit dem Abschneiden der Probanden in der Kategorie visuelles Gedächtnis getestet (Tabelle 3-8).

	SNP	Haplotyp	Frequenz	Score	p-Wert*
Block 1	rs2734841, rs1124492, rs6277, rs6275, rs2283265, rs2440390, rs1079727, rs7350522, rs4587762, rs4586205, rs17115583, rs4648318, rs4648319, rs12574471	1 GCTCGCAGATGACC	0,515	0,145	0,878
		2 GCCCTCGTGTGATC	0,169	-1,353	0,185
		3 TCCTGTAGGGGGCT	0,116	-1,238	0,225
		4 TACTGCAGGGAGCC	0,102	0,713	0,477
		5 TCCTGCAGATGACC	0,061	2,075	0,030
Block 2	rs4460839, rs7122454, rs7131056, rs11214613	1 TGCG	0,429	2,000	0,053
		2 TGAG	0,347	-1,337	0,187
		3 TCCG	0,134	-0,481	0,624
		4 CGAA	0,087	-0,577	0,571

Tabelle 3-8: Geschätzte Haplotypfrequenzen bei Testung des visuellen Gedächtnisses

* simulierter p-Wert

Bei Haplotyp-Block 1 zeigte sich eine signifikante Assoziation bei der Allelkombination TCCTGCAGATGACC (score = 2,075; $p = 0,030$), die bei Teilnehmern mit besseren visuellen Ergebnissen häufiger vorkam (Block 1, Haplotyp 5).

Bei Haplotyp-Block 2 zeigte sich ein Trend zur Signifikanz für die Allelkombination TGCG (score = 2,000; $p = 0,053$). Der Haplotyp TGCG geht dabei mit besseren Ergebnissen im visuellen Gedächtnis einher (Block 2, Haplotyp 1).

Aufmerksamkeit / Konzentration

Die Haplotyp-Blöcke wurden auf eine Assoziation mit kognitiver Leistung in der Kategorie Aufmerksamkeit / Konzentration getestet (Tabelle 3-9).

	SNP	Haplotyp	Frequenz	Score	p-Wert*
Block 1	rs2734841, rs1124492, rs6277, rs6275, rs2283265, rs2440390, rs1079727, rs7350522, rs4587762, rs4586205, rs17115583, rs4648318, rs4648319, rs12574471	1 GCTCGCAGATGACC	0,515	1,650	0,087
		2 GCCCTCGTGTGATC	0,169	-1,953	0,052
		3 TCCTGTAGGGGGCT	0,116	-0,660	0,524
		4 TACTGCAGGGAGCC	0,102	1,025	0,311
		5 TCCTGCAGATGACC	0,061	-0,613	0,516
Block 2	rs4460839, rs7122454, rs7131056, rs11214613	1 TGCG	0,429	-0,625	0,548
		2 TGAG	0,347	1,271	0,215
		3 TCCG	0,134	-0,008	0,997
		4 CGAA	0,087	-0,657	0,525

Tabelle 3-9: Geschätzte Haplotypfrequenzen bei Testung von Aufmerksamkeit / Konzentration

* simulierter p-Wert

In Haplotyp-Block 1 zeigten Träger des Haplotypen 1 (GCTCGCAGATGACC) einen Trend zu signifikant höheren Werten (Score = 1,650; $p = 0,087$). Träger des

Haplotypen 2 (GCCCTCGTGTGATC) zeigte einen Trend zu signifikant niedrigeren Werten (Score = -1,953; $p = 0,052$). Somit ist Haplotyp 1 mit besseren Leistungen bei Aufmerksamkeit / Konzentration assoziiert, Haplotyp 2 mit schlechteren Leistungen.

3.4.3 Zusammenfassung

Beide Blocks zeigen je einen Haplotypen, der mit besserem Abschneiden in der Kategorie visuellem Gedächtnis assoziiert ist. Ein Haplotyp ist dabei signifikant (Block 1, Haplotyp 5) und ein Haplotyp mit Trend zur Signifikanz (Block 2, Haplotyp 1) assoziiert.

In der Kategorie Aufmerksamkeit / Konzentration sind zwei Haplotypen in Block 1 mit Trend zur Signifikanz assoziiert (Block 1, Haplotyp 1 und 2). Die unterschiedlichen Effekte auf die Leistung lassen einen Vergleich der Allelkombinationen der beiden Haplotypen zu (siehe Tabelle 3-10). Von den insgesamt 14 SNPs des Haploblocks unterscheiden sich die beiden Haplotypen an 6 SNP-Positionen (SNP rs6277, rs2283265, rs1079727, rs7350522, rs4587762 und rs4648319).

Für jeden SNP ist das in der WMS-R-Stichprobe häufiger aufgetretene Allel mit besseren Leistungen im Test verbunden. Die SNPs rs7350522, rs4648319 (alle signifikant), rs1079727 und rs2283265 (beide mit Trend zur Signifikanz) sind auch auf Einzel-SNP-Ebene mit Aufmerksamkeit / Konzentration assoziiert und wurden bereits zuvor beschrieben (siehe Kapitel 3.3). Der SNP rs6277 und der SNP rs4587762 zeigten in der Einzel-SNP Analyse keinen Hinweis für eine Assoziation. In der Fall-Kontroll-Assoziationsstichprobe waren für alle SNPs des Blocks 1 die selteneren Allele häufiger bei schizophrenen Patienten als bei gesunden Kontrollprobanden zu finden. Für zwei SNPs (rs1079727 und rs4587762) fand sich ein Trend zur Signifikanz (siehe Kap. 3.2). Das zeigt eine Häufung der Allele mit schlechterer Leistung bei schizophrenen Patienten (vgl. Tabelle 3-10).

Für das bei den Haplotypen beteiligte seltenere Allel von SNP rs6277 (C; T > C) ließ sich weder in der WMS-R noch in der Fall-Kontroll-Stichprobe eine Assoziation mit verminderter Gedächtnisleistung oder Schizophrenie feststellen. Als einziger der hier genannten SNPs kam er zudem in der Subgruppe der Endophänotyp-Stichprobe bei Kontrollprobanden häufiger vor als bei Patienten.

SNP	Haplotyp		Endophänotyp- Stichprobe	<i>p</i> -Wert	Fall-Kontroll- Stichprobe		<i>p</i> -Wert
	1	2			Allelverteilung		
rs6277	T	C	TT > CT > CC	n.s	C	Fall > Kon	n.s.
rs2283265	G	T	GG > TG > TT	0,079	T	Fall > Kon	n.s.
rs1079727	A	G	AA > GA > GG	0,060	G	Fall > Kon	0,078
rs7350522	G	T	GG > TG > TT	0,043	T	Fall > Kon	n.s.
rs4587762	A	G	AA > GA > GG	n.s	G	Fall > Kon	0,069
rs4648319	C	T	CC > TC > TT	0,036	T	Fall > Kon	n.s.

Tabelle 3-10: Vergleich der SNPs in Block 1 mit unterschiedlichen Allelen mit Einzelwerten aus WMS und Fall-Kontroll-Stichprobe

n.s. = nicht signifikant; Kon = Kontrolle

4 Diskussion

Aufgrund der zentralen Rolle des Dopaminstoffwechsels in der Pathophysiologie der Schizophrenie gilt das den D₂-Rezeptor codierende Gen, DRD2, als potenzielles Suszeptibilitätsgen für Schizophrenie.

4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Zum Nachweis einer Assoziation des DRD2 Gens mit Schizophrenie wurden Genotyp- und Allelfrequenzen von 21 Polymorphismen in einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie auf ihre Verteilung bei Schizophrenen und Gesunden untersucht. Eine Untergruppe wurde in einem zweiten Test auf eine Assoziation mit Gedächtnisleistung untersucht. Eine Zusammenfassung der Ergebnisse zeigt Tabelle 3-10.

(1) In dieser Studie zeigt sich, dass die SNPs rs1801028 (G-Allel; Allelverteilung: $p = 0,039$; Dominantes Modell: $p = 0,029$; MAF = 0,02; Signifikanz), rs1079727 (G-Allel; Allelverteilung: $p = 0,078$; Dominantes Modell: $p = 0,081$; MAF = 0,16; Trend), rs4587762 (G-Allel; Allelverteilung: $p = 0,069$; Dominantes Modell: $p = 0,051$; MAF = 0,41; Trend) und rs10891552 (T-Allel; Genotyp: $p = 0,072$; Trend Rezessives Modell: $p = 0,025$; MAF = 0,03; Signifikanz) mit dem Phänotyp Schizophrenie assoziiert sind.

(2) Eine Assoziation mit dem intermediären Phänotypen Gedächtnisleistung (WMS-R) findet sich für fünf SNPs. Der SNP rs7131056 ($p = 0,024$, signifikant) ist mit visuellem Gedächtnis assoziiert. Die SNPs rs4648319, rs7350522 ($p = 0,043$; $p = 0,036$; signifikant), sowie rs1079727, rs2283265 ($p = 0,06$; $p = 0,079$; Trend) sind mit Aufmerksamkeit / Konzentration assoziiert.

(3) Es wurden zwei Haplotyp-Blöcke identifiziert, die sich über 34 kb (Block 1 mit 14 SNPs, 3'-Bereich Intron 1 bis einschließlich Exon 7) beziehungsweise über 13 kb (Block 2 mit 4 SNPs, 5'-Bereich Intron 1) erstrecken.

4) In der Haplotyp-Analyse waren je ein Haplotyp aus Block 1 (TCCTGCAGATGACC, signifikant) und Block 2 (TGCG, Trend) mit besserer visueller Gedächtnisleistung assoziiert. Je ein Haplotyp aus Block 1 war mit

besseren (GCTCGCAGATGACC, Trend) und schlechteren Gedächtnisleistungen (GCCCTCGTGTGATC, Trend) assoziiert.

4.2 Diskussion der Methodik

Genetische Assoziationsstudien sind grundsätzlich ein solider Ansatz um den genetischen Beitrag an einer Erkrankung zu erforschen. Jedoch müssen bei der Interpretation der Ergebnisse eine Reihe von methodischen Fehlerquellen und Einflussmöglichkeiten auf die Studie berücksichtigt werden.

Studiendesign

Für eine Assoziation mit Schizophrenie wurde in der vorliegenden Studie ein Fall-Kontroll-Assoziations-Design angewendet. Bei der Endophänotyp-Studie wurden Fälle und Kontrollen gepoolt und mit der Gedächtnisleistung im WMS-R verglichen.

Eine Fall-Kontroll-Studie eignet sich insbesondere zur Detektion kleiner Effekte, indem durch eine hohe Stichprobengröße die zum Nachweis benötigte Power generiert wird. Für den kürzlich erfolgten Nachweis einer Assoziation des DRD2 Gens mit genomweiter Signifikanz war eine deutlich größere multinationale Stichprobe (ca. 150.000 Probanden) nötig (Ripke et al., 2014). Dabei könnten verschiedene Ethnien die Effekte verwischen, sodass eine kleinere Studie mit homogener Zusammensetzung bereits mit einer kleineren Probandenzahl auskommt. Zudem fand in der vorliegenden Studie ein Vergleich mit kognitiven Testparametern statt, der in dieser Form die bislang größte Studie darstellt.

In dem Verfahren wurde ein Teil der Klinikpatienten mit einer Zufallsstichprobe an Kontrollprobanden aus München verglichen und aus diesem Pool die Teilnehmer für die Endophänotyp-Studie rekrutiert. Verzerrungen durch Tendenzen bei Absagen an der Studienteilnahme sind denkbar.

Durch die Wahl von Polymorphismen als klar definierten biologischen Parametern ist die Zahl möglicher Fehlerquellen bei einer Assoziationsstudie reduziert. Jedoch ist eine homogene genetische Basis als Voraussetzung valider Ergebnisse bei Schizophrenie nicht gegeben, weshalb eine Verschleierung potentieller Assoziationen nicht auszuschließen ist (Attia et al., 2009b).

Stichprobenzusammensetzung

Das Gesamtkollektiv in der Fall-Kontroll-Stichprobe ist mit 3272 Probanden verglichen mit anderen Studien groß; das Gesamtkollektiv der Kognitionsstichprobe mit 884 Teilnehmern durchschnittlich groß.

Die Kovariablen Alter, Geschlecht und Schulbildung wurden erfasst und bei der Auswertung der kognitiven Leistungen durch multivariate Testung berücksichtigt und bei Probanden über 60 Jahren altersbedingte kognitive Einbußen ausgeschlossen. Das Durchschnittsalter liegt bei 47,8 Jahren in der Fall-Kontroll-Stichprobe und bei 44,8 Jahren in der Kognitionsstichprobe. Das hohe Alter ist günstig, da eine Erstmanifestation der Schizophrenie über diesem Alter vergleichsweise selten ist und die Gefahr von (noch) phänotypisch unauffälligen Personen in der Kontrollgruppe ausgesprochen gering ist. Bei der vorliegenden Studie wurde keine getrennte Auswertung für die Geschlechter durchgeführt.

Ethnische Abstammung

Eine wichtige Fehlerquelle bei der Methodik von Assoziationsstudien ist eine ethnisch inhomogene Zusammensetzung der Studienpopulation. Der Hintergrund ist, dass verschiedene Ethnien (z.B. Afrikaner, Europäer bzw. Kaukasier, Asiaten) nachgewiesenermaßen teils deutlich voneinander abweichende Allel- und Genotypfrequenzen haben. Diese haben sich als Folge von Evolutionsfaktoren wie Gendrift und Genshift ausgebildet und können für einzelne Ethnien charakteristisch sein (z.B. Haut- oder Haarfarbe). In Assoziationsstudien können ethnische Einflüsse jedoch statistisch unerwartete Abweichungen simulieren. Beispielsweise kommt das seltenere T-Allel von SNP 6277 bei Menschen afrikanischer und asiatischer Herkunft zu drei bis acht Prozent vor, während es bei Kaukasiern zu über 50 Prozent auftritt (HapMap, 2003). In diesem Fall könnten bereits wenige Kaukasier in einer großen Gruppe von Afrikanern oder Asiaten zu einer unverhältnismäßig hohen Frequenz des T-Allels führen, die zwar statistisch hervorsteht, aber zugleich eine Assoziation mit anderen Variablen (z.B. Schizophrenie) verfälscht, weil sie durch ethnische Einflüsse zustande gekommen ist.

Das Ziel bei der Probandenwahl ist daher die gezielte Selektion einer in sich homogenen Ethnie, um bedingte Abweichungen bei der Genotypenverteilung zu minimieren und die Validität der Studie zu erhöhen. In der vorliegenden Studie

wurde darauf geachtet, nur Probanden kaukasischer Abstammung (Eltern und Großeltern und Urgroßeltern) in die Studie einzuschließen. Alle Teilnehmer waren zum Zeitpunkt der Einladung im Großraum München gemeldet. Eine weitergehende Aussage über die ursprüngliche Heimat lässt sich angesichts des hohen Anteils an Zuwanderern aus anderen Teilen der Bundesrepublik nicht treffen. Die Selbstauskunft der Probanden zu ihrer Abstammung wurde dabei als ausreichend erachtet, was in Übereinstimmung zur Literatur steht (Attia et al., 2009b).

Zur Kontrolle der Studienergebnisse auf Validität und Plausibilität wurde die Allel- und Genotypenverteilung mit den Ergebnissen von HapMap verglichen. HapMap ist eine öffentlich zugängliche Datenbank (www.hapmap.org) mit Referenzwerten für die SNP-Frequenzen verschiedener Ethnien, darunter Afrikaner, Asiaten und Europäer (HapMap, 2003). Die Abbildung 5-1 zeigt für jeden in der Studie untersuchten SNP eine Gegenüberstellung von HapMap-Referenzdaten und Daten der Fall-Kontroll- (CC) bzw. der Kognitionsstichprobe (Kog).

Die Referenzdaten für die kaukasische Population stammen von in Utah, USA lebenden Nachfahren nord- und westeuropäischer Einwanderer (CEU). Weitere Referenzdaten stammten von Han-Chinesen aus Beijing (Peking, HCB), Japanern aus Tokyo (JPT) und vom nigerianischen Stamm der Yoruba in Ibadan (YRI).

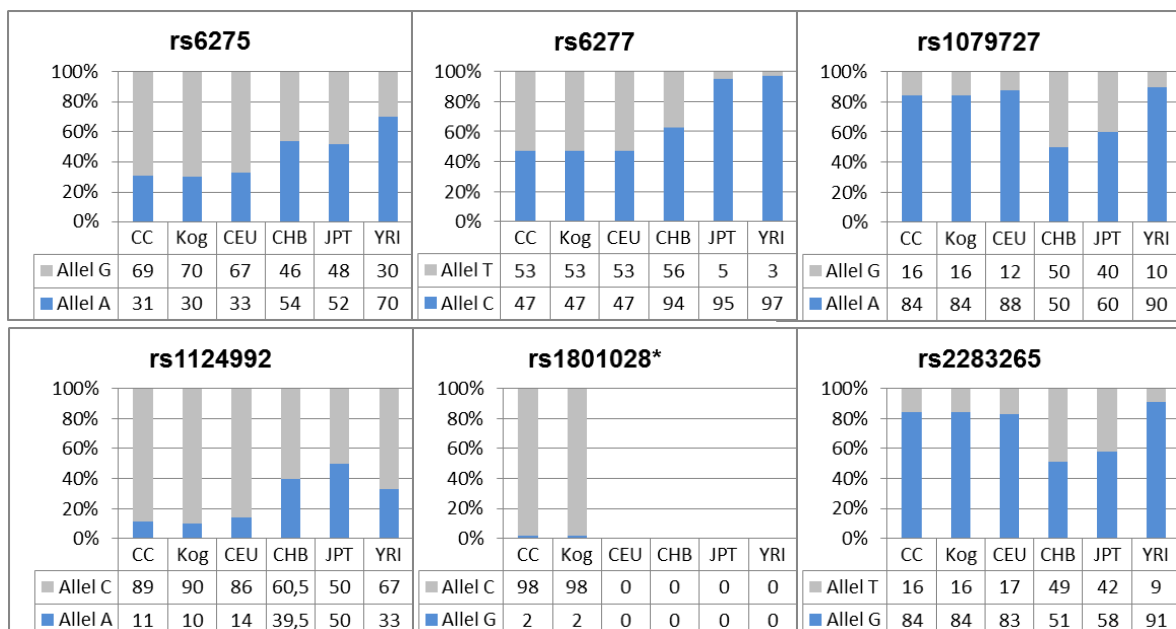


Abbildung 5-1 Prozentuale Allel-Frequenzen der 21 SNPs des DRD2 Gens verglichen mit HapMap- Daten. CC = Fall-Kontroll-Kollektiv; Kog = Kognitionskollektiv; CEU = Europäer (Utah [USA], nord- und westeuropäischer Abstammung); CHB = Han-Chinesen (Beijing); JPT = Japaner (Tokyo); YRI = Nigerianer, Stamm der Yoruba (Ibadan).

Quelle: HapMap Genome Browser release#28, www.hapmap.org (HapMap, 2003).

* HapMap-Daten sind unvollständig bzw. fehlen.

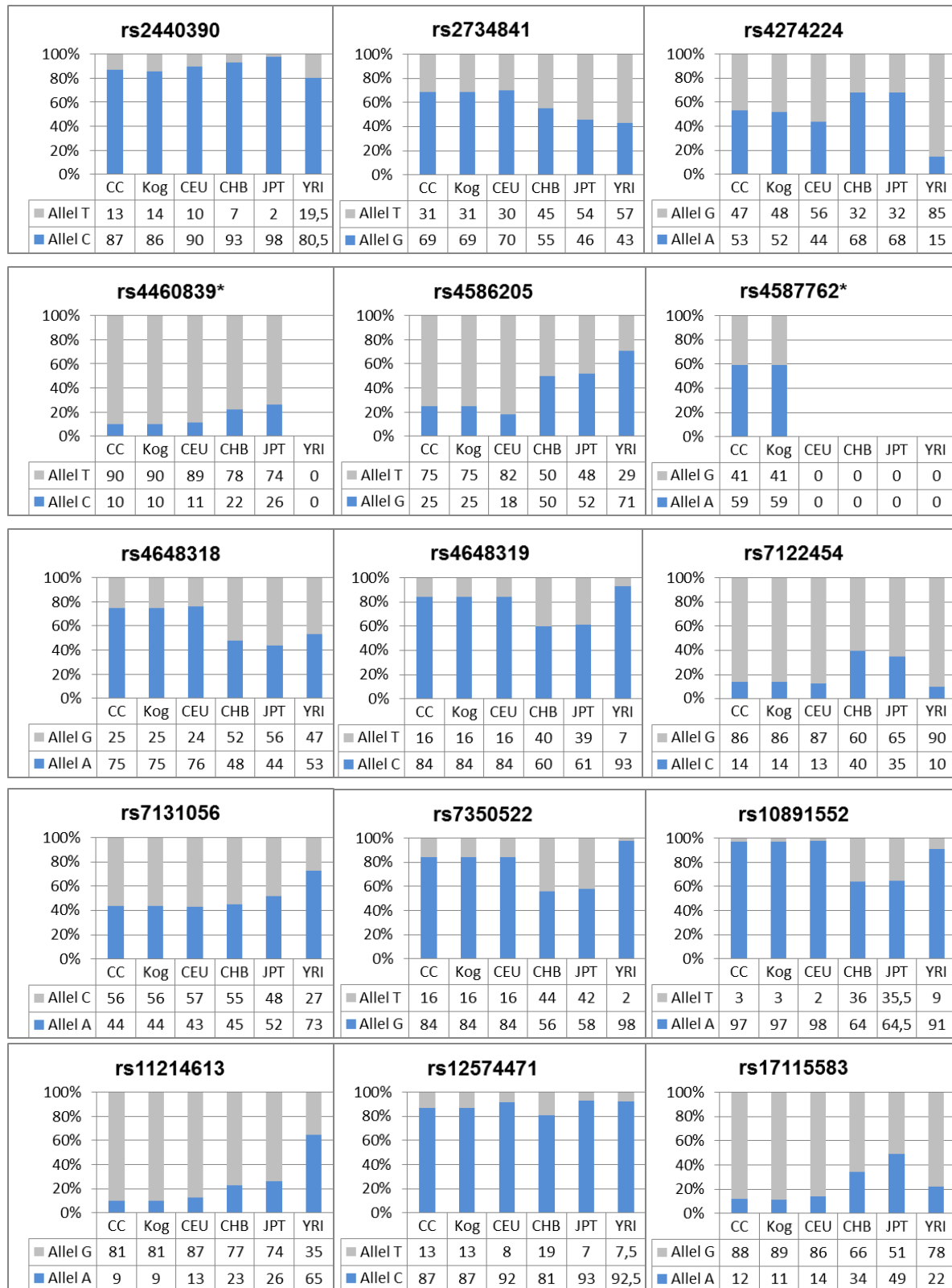


Abbildung 5-1 Prozentuale Allel-Frequenzen der 21 SNPs des DRD2 Gens verglichen mit HapMap- Daten. CC = Fall-Kontroll-Kollektiv; Kog = Kognitionskollektiv; CEU = Europäer (Utah [USA], nord- und westeuropäischer Abstammung); CHB = Han-Chinesen (Beijing); JPT = Japaner (Tokyo); YRI = Nigerianer, Stamm der Yoruba (Ibadan).

Quelle: HapMap Genome Browser release #28, www.hapmap.org (HapMap, 2003).

* HapMap-Daten sind unvollständig bzw. fehlen

Für SNPs mit einer Häufigkeit <5 Prozent in der Bevölkerung gibt es keine Daten in der HapMap-Datenbank. In der vorliegenden Studie liegen daher für die SNPs rs1801028 und rs4587762 keine Daten vor und für den SNP rs4460839 nur eingeschränkte Daten (CEU, HCB, JPT).

Für den SNP rs4587762 liegen Daten aus dem 1000 Genomes Project einer mit HapMap vergleichbaren Datenbank vor (Overbeek et al., 2005). Die beiden Projekte sind miteinander vergleichbar, was die untersuchten Ethnien angeht. Bei dem hier vorliegenden SNP wurden die chinesische und japanische Ethnie (CHB + JPT) zusammengefasst und nicht getrennt betrachtet (Abbildung 5-2).

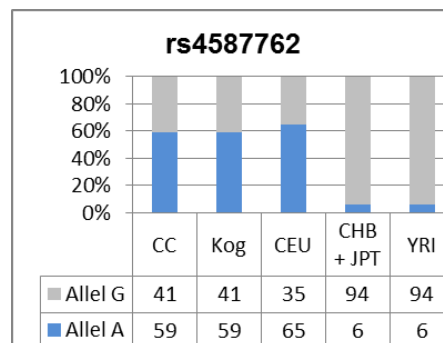


Abbildung 5-2 Vergleich von SNP rs4587762 mit Referenzdaten des 1000 Genomes Project. Die Untersuchungspopulation von Chinesen und Japanern wurde zusammengefasst. CC = Fall-Kontroll-Kollektiv; Kog = Kognitionskollektiv; CEU = Kaukasier (Utah [USA], nord- und westeurop. Abstammung); CHB = Han-Chinesen; JPT = Japaner; YRI = Nigerianer, Stamm der Yoruba (Ibadan)

Quelle: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=4587762

Für den SNP rs1801028 liegen im 1000 Genomes Project nur kaukasische Daten (CEU) vor. Eine weitere Angabe zur Allel-Verteilung stammt aus nicht näher bezeichneten Daten einer Studie mit 198 Teilnehmern, die veröffentlicht wurde (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=1801028).

Die Studienteilnehmer sind kaukasisch (CAUC1, n = 60), afrikanisch bzw. afroamerikanisch (AFR, n = 46), spanisch (HISP1 n = 46) und von der Pazifikküste (PAC1, n = 46). Die Ergebnisse sind in Abbildung 5-3 zusammengefasst.

Wird die Frequenzhäufigkeit der SNPs bei den einzelnen Ethnien betrachtet, so fällt auf, dass die Frequenzen der hier vorliegenden Stichprobe mit Probanden aus dem Großraum München am ehesten den Frequenzen für die kaukasische Referenzpopulation entsprechen. Das spricht für eine homogene kaukasische Studienpopulation und ist ein Hinweis auf valide Studienergebnisse.

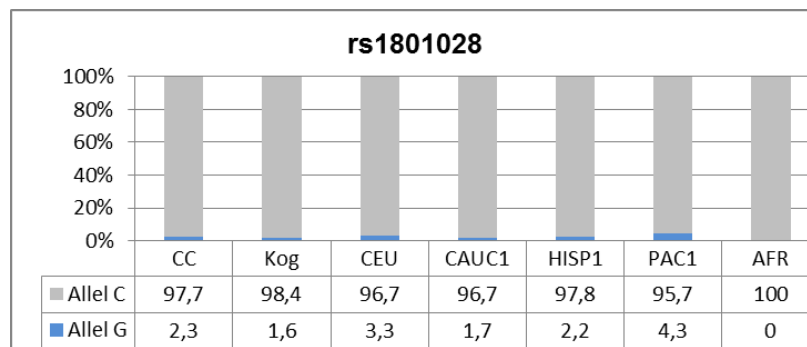


Abbildung 5-3 Vergleich von SNP rs4587762 mit Referenzdaten des 1000 Genomes Project und einer weiteren Genotypisierung.

CC = Fall-Kontroll-Kollektiv; Kog = Kognitionskollektiv; CEU = Europäer (Utah [USA], nord- und westeuropäischer Abstammung), 1000 Genomes Project; CAUC1 = Kaukasier; HISP1 = Spanier; PAC1 = Pazifikbewohner, AFR = Afrikaner / Afroamerikaner.

Quelle: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=1801028

Gleichzeitig machen die teils deutlichen ethnischen Unterschiede bei den Frequenzhäufigkeiten deutlich, wie wichtig die ethnische Zusammensetzung für die Validität der Studie ist. Zudem beschränkt sich damit die Aussagekraft der Ergebnisse primär auf die kaukasische Bevölkerungsgruppe.

Auswahlverfahren und Ausschlusskriterien

Neben einer homogenen ethnischen Abstammung wurden Kontrollprobanden in einem mehrstufigen Auswahlverfahren (Screening) auf psychische und hirnorganische Ausschlusskriterien geprüft und bei Zutreffen von der Studie ausgeschlossen.

Die Diagnose Schizophrenie wurde bei Patienten mit dem Strukturierten Klinischen Interview (SKID I und II) verifiziert. Dabei wurden Patienten mit Anhaltspunkten für eine sekundäre Schizophrenie, das heißt eine Form der Erkrankung, die im Gegensatz zur primären Schizophrenie nicht genetisch, sondern durch andere Auslöser (Schädel-Hirn-Trauma, Drogenkonsum) verursacht wird, von der Teilnahme ausgeschlossen. Gleiches galt für Patienten, die an einer mit Schizophrenie eng verwandten psychischen Erkrankung wie der schizophrenieformen oder schizoaffektiven Störung erkrankt waren.

Gesunde Teilnehmer wurden mit dem SKID getestet um verdeckt vorliegende psychische Störungen auszuschließen. Bei Vorliegen einer Schizophrenie, einer verwandten Störung oder Exposition mit sekundären Auslösern der Schizophrenie wurden die Personen ausgeschlossen. Dazu wurden die Probanden auf neurologische Auffälligkeiten untersucht und mehrfach um Selbstauskunft unter

anderem mit dem Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (LEBI) gebeten. Um eine genetische Belastung so gering wie möglich zu halten, mussten nahe Verwandte der Probanden ebenfalls psychisch unauffällig sein. Dazu wurde die psychische Verfassung nahestehender Verwandter mit dem Family History Assessment Module (FHAM) abgefragt.

Die Durchführung der Gespräche und der Diagnostik verliefen blind, ohne dass der Tester zum Testzeitpunkt über Kenntnis des Genotyps der getesteten Versuchsperson verfügte.

Einschränkend muss gesagt sein, dass einige der Ausschlusskriterien wie Drogenkonsum in der Vergangenheit und psychische Probleme beim Einzelnen nach wie vor mit Scham oder Unbehagen belegt sein können. Obwohl durch die mehrfache Aufforderung zur Selbstauskunft und der Vergleich der Antworten die Wahrscheinlichkeit wahrheitsgetreuer Angaben erhöht wird, können vereinzelte Unwahrheiten bei der Selbstauskunft nicht ausgeschlossen werden.

Methodik

Fehler bei der Genotypisierung könnten ebenfalls die Validität beeinträchtigen. Um ein unverfälschtes und akkurates Ergebnis der Genotypisierung zu sichern wurde das Blut von Erkrankten und Kontrollen im hauseigenen Labor auf die gleiche Weise gewonnen, gelagert und untersucht. Alle untersuchten SNPs befanden sich im HWE, was einen ersten Qualitätshinweis liefert, obgleich unspezifisch und wenig sensitiv. Jedoch liefern Genotypisierungsfehler in der Regel keine ausreichende Abweichung vom HWE um entdeckt zu werden (Cox und Kraft, 2006, Attia et al., 2010).

Testung der Gedächtnisleistung

Die Kognitionstestung erfolgte mit dem Wechsler Gedächtnistest - Revidierte Fassung (Härting et al., 2000), der auf Basis der 1987 veröffentlichten Wechsler Memory Scale – Revised (Wechsler, 1987) für den deutschen Raum übersetzt und neu normiert wurde. Der Test gilt als ausreichend reliabel und eingeschränkt valide.

Die Studien zur statistischen Güte beziehen sich alle auf die amerikanische Form der WMS-R, deren Ergebnisse aufgrund der inhaltlichen Übereinstimmung mit der deutschen Form auf den WMS-R (dt.) übertragbar sind. Der WMS-R erfüllt die

Gütekriterien und gilt als reliable Methode zu Testung der Gedächtnisleistung. Die Durchführungs- und Auswertungsobjektivität (Interrater Reliabilität) ist beim WMS-R durch strenge Regularien hoch, auch wenn ein minimaler Ermessensspielraum verbleibt. Die Reliabilitätskoeffizienten der Gesamtindizes liegen zwischen 0,80 und 0,88. Und sind als reliabel anzusehen (Härting et al., 2000). Bei der Durchführung gilt es diverse Einflussfaktoren wie Tageszeit, Nervosität, Motivation und Energieniveau der Probanden zu berücksichtigen, die sich mit auf das Testresultat auswirken.

Es bleibt aufgrund unzureichender Studienlage unklar, inwieweit die kognitiven Domänen durch den WMS-R valide abgebildet werden. In einer multiplen Regressionsanalyse fanden sich Hinweise, dass das Visuelle Gedächtnis empfänglich für zahlreiche externe Einflüsse zeigte (Moore und Baker, 1997). Dabei ist das Gedächtnis ein ausgesprochen komplexes und vages Gebilde, das hohe Anforderungen an die Testvalidität stellt. Das Alter aller Teilnehmer der Kognitionsstichprobe lag mit 18 bis 72 Jahre im validierten Altersbereich des WSM-R von 16 bis 75 Jahre (Härting et al., 2000). Der Bildungsstand zeigte in allen Untertests einen signifikanten Einfluss, eigene Normen liegen jedoch nur für Abiturienten vor. Das könnte zu Verzerrungen der Ergebnisse bei Personen mit niedrigerer Schulbildung führen. Ein weiterer Nachteil des WMS-R ist seine Sprachlastigkeit, auch wenn diese durch die muttersprachlichen Kenntnisse der Versuchsteilnehmer vernachlässigt werden kann. Das Geschlecht bleibt bei der Normierung unberücksichtigt, da sich Männer und Frauen im WMS-R nicht signifikant in ihren Ergebnissen unterscheiden.

Statistische Auswertung

Bereits statistisch gesehen ist die Gefahr eines falsch-positiven Ergebnisses sehr hoch (Colhoun et al., 2003). Auf die Korrektur nach Bonferroni wurde aufgrund des präliminären Charakters der Studie verzichtet. Dadurch ist die Zahl an falsch-positiven Ergebnissen (Fehler 1. Art) erhöht, es zeigt aber zugleich eine möglichst große Zahl an potentiell interessanten Ergebnissen auf, die einer weiteren Replizierung durch andere Studien bedürfen.

4.3 Interpretation der Ergebnisse

Ziel der vorliegenden Fall-Kontroll-Studie war es, 21 Polymorphismen des DRD2 Gens auf eine mögliche Assoziation mit dem klinischen Phänotyp Diagnose und dem Endophänotyp Gedächtnisleistung (Testung durch WMS-R) zu untersuchen.

4.3.1 Interpretation der Fall-Kontroll-Stichprobe

In der vorliegenden Fall-Kontroll-Studie zeigt sich eine signifikante Assoziation des SNPs rs1801028 (Ser311Cys; C > G) mit Schizophrenie. Das G-Allel tritt bei gesunden Kaukasiern in der Allelverteilung und im dominanten Genotypen-Modell gehäuft auf. Somit ergibt sich ein Hinweis auf einen protektiven Einfluss des G-Allels in Bezug auf Schizophrenie. Aufgrund der geringen minimalen Allelfrequenz mit wenigen C-Allel-Trägern in der Stichprobe ist dieses Ergebnis nur eingeschränkt valide und sollte zurückhaltend interpretiert werden.

Anhand der zu diesem SNP existenten vergleichbaren Studien und Meta-Analysen gilt das G-Allel bei gehäuftem Auftreten bei Schizophreniepatienten als Risikoallel für Schizophrenie. Das konträre Ergebnis wird durch ethnische Subgruppenanalysen in neueren Studien teilweise entkräftet. Darin konnten das Ergebnis für Asiaten repliziert werden, bislang nicht jedoch für Kaukasier. Der Grund könnte in der geringeren minimalen Allelfrequenz in der kaukasischen Bevölkerung liegen (1,7% kaukasisch vs. 9,1% asiatisch), was die Generierung ausreichender Studiendaten erschwert. Alternativ können externe Einflüsse (Umwelt, Epigenetik) die Ausprägung modifizieren. Zudem ist ein tatsächlicher protektiver Effekt in der kaukasischen Bevölkerung denkbar. Dafür liefert diese Studie einen Hinweis.

Molekularbiologische Untersuchungen stützen sowohl protektive als auch risikosteigernde Hypothesen. Der Polymorphismus bewirkt eine missense Mutation durch konsekutiven Austausch der Aminosäure Serin (C-Allel) durch Cystein (G-Allel). Funktionsuntersuchungen zum Polymorphismus lassen eine protektive, als auch eine risikoerhöhende Funktion auf Basis einer veränderten D₂-Rezeptorphysiologie und D₂-Rezeptorfunktion denkbar erscheinen. Die veränderte Aminosäure ist im mittleren Abschnitt der dritten intrazellulären Schleife lokalisiert – jenem Abschnitt, dem eine wichtige Rolle bei der Signaltransduktion zugesprochen wird (Arinami et al., 1994). Cravchik et al. wiesen eine zweifach

verminderte Dopaminaffinität des G-Allels im Vergleich zum C-Allel an Zellen aus Hamsterovarien nach. Damit einher ging eine eingeschränkte Rezeptorfunktion mit um 50% verminderter konsekutiver cAMP-Reduktion (Cravchik et al., 1996). Wird von einer Minderung der Rezeptorfunktion als Ziel einer antipsychotischen Therapie ausgegangen, so wären diese Ergebnisse mit einer potentiellen Schutzfunktion des G-Allels vereinbar. Es fanden sich Hinweise, dass Patienten mit dem G-Allel eine abgeschwächte Symptomatik und ein besseres Therapieansprechen zeigten (Arinami et al., 1994). Eine Funktionsuntersuchung zur Rezeptorinaktivierung zeigte bei Tierzellen eine langsamere intrazelluläre Einlagerung (Sequestrierung) des Dopamin-Rezeptors unter Stimulation mit Dopamin für das G-Allel im Vergleich zum C-Allel. Die Autoren mutmaßten, dass dies eine verminderte Down-Regulation auf Dopamin zu Folge haben könnte, die durch eine verstärkte dopaminerge Signaltransduktion zu einem erhöhten Schizophrenierisiko führen könnte (Itokawa et al., 2010).

Zusammenfassend zeigt sich in dieser Studie eine schwache Evidenz bezüglich einer protektiven Assoziation des minoren Allels von rs1801028 und Schizophrenie bei Kaukasiern. Es handelt sich um einen vielversprechenden Ansatz für weitere genetische Untersuchungen, der der Replikation in weiteren Studien mit ausreichender Power bedarf.

Einschränkend muss gesagt sein, dass inkongruent mit der in dieser Studie tendenziell erhobenen Assoziation des G-Allels von SNP rs1079727 mit Schizophrenie (Trend zur Signifikanz), in einer weiteren Studie das majore A-Allel als Risikomarker beschrieben worden ist (Glatt et al., 2009). Die Studie wurde an Chinesen durchgeführt, möglicherweise ist diese Diskrepanz daher analog zur oben beschriebenen Konstellation bei SNP rs1801028 zu sehen. Das Ergebnis dieser Studie erfordert daher weitere Untersuchungen bezüglich des SNPs.

Eine Assoziation von rs4587762 und Schizophrenie ist bis dato nicht in der Literatur beschrieben. In dieser Stichprobe zeigt sich für das G-Allel tendenziell eine Assoziation als Risikomarker für Schizophrenie (Trend zur Signifikanz). Die genomische Lage des SNPs auf dem DRD2 Gen liefert einen möglichen Hinweis für die biologische Vermittlung des Risikoeffektes. Der SNP liegt in einem Intron-Abschnitt, in dessen Bereich für andere SNPs eine Regulation auf Spleißverhalten und Schizophrenie fördernder Effekte beschrieben wurde (Zhang et al., 2007).

Diesbezüglich bedarf es der Bestätigung durch positive Ergebnisse von weiteren Arbeiten.

Das T-Allel des SNP rs10891552 zeigt einen Trend als Risikoallel für Schizophrenie. Es ist in der Literatur lediglich eine Assoziation des T-Allels zu erhöhter Nikotinabhängigkeit beschrieben (Bergen et al., 2009). Aufgrund der niedrigen minoren Allelfrequenz ist die Aussagekraft des Ergebnisses eingeschränkt und muss durch weitere Studien verifiziert werden.

Weitere beschriebene Assoziationen, wie zum Beispiel für den Marker rs2283265 (Glatt et al., 2009), konnten in dieser Arbeit nicht repliziert werden. Ein methodisches Problem stellt die Verschleierung von tatsächlichen Effekten durch das klinisch wie genetisch heterogene Krankheitsbild, die nur geringe Effektgröße einzelner Polymorphismen und die komplexen Gen-Gen- und Gen-Umwelt-Interaktionen dar (Fanous und Kendler, 2008). Es ist daher nicht auszuschließen, dass sich die in einzelnen Untergruppen ausgeprägt vorhandenen Effektgrößen gegenseitig aufheben und dadurch zu einer geringen globalen Effektgröße führen. Ein aktueller Lösungsansatz, um der genetischen Heterogenität gerecht zu werden, besteht in der Auswertung hunderttausender von genetischen Sätzen, die in multizentrischen genomweiten Assoziationsstudien (GWA) erhoben werden. Bislang ist in der bis dato größten GWA ein SNP im DRD2 Gen signifikant mit Schizophrenie assoziiert. Dieser SNP - rs2514218 - wurde in dieser Arbeit zwar nicht erfasst, der Hinweis auf eine Beteiligung des DRD2-Gens an der Ätiologie der Schizophrenie wurde dadurch jedoch bestärkt.

4.3.2 Interpretation der Endophänotyp-Stichprobe

Ein weiterer in dieser Studie verfolgter Lösungsansatz mittels Endophänotypen versucht, der heterogenen Klinik der Schizophrenie gerecht zu werden. Der gewählte Endophänotyp Kognition bzw. kognitive Defizite (z.B. Arbeitsgedächtnis) sind insbesondere in Bezug auf Schizophrenie und das DRD2 Gen valide und gut dokumentiert (Bertolino et al., 2009).

Das A-Allel von SNP rs7131056 ist signifikant mit schlechterer visueller Gedächtnisleistung assoziiert. Ein Zusammenhang mit Schizophrenie oder Kognition in der Literatur ist bis dato nicht beschrieben. Die Lage des

Polymorphismus in der Intronsequenz 1 lässt nur einen indirekten Einfluss auf das Genprodukt vermuten. Publikationen Untersuchungen hierzu gibt es bislang keine. Für das T-Allel von rs4648319 und das T-Allel von rs7350522 zeigt sich in dieser Stichprobe eine signifikante Assoziation mit kognitivem Defizit im Bereich der Aufmerksamkeit / Konzentration. Für beide Polymorphismen ist bislang kein Zusammenhang mit Schizophrenie und Kognition in der Literatur beschrieben. Für die beiden SNPs wurde erstmalig ein Zusammenhang mit Aufmerksamkeit / Konzentration berichtet; publizierte Daten sind bislang nicht beschrieben.

Für die minoren Allele von rs1079727 (G-Allel) und von rs2283265 (T-Allel) besteht ein Hinweis (Trend zur Signifikanz) auf Assoziation mit kognitivem Defizit im Bereich der Aufmerksamkeit / Konzentration. Das Ergebnis in Bezug auf den SNP rs2283265 ist mit dem Ergebnis der kognitiven Testung in Bezug Arbeitsgedächtnis und Aufmerksamkeit auf von Zhang et al. 2007 konsistent (Zhang et al., 2007). Genetische Untersuchungen zu den beiden SNPs legen einen regulatorischen Einfluss auf das Spleißverhalten nahe. So wurde für die hier genannten Risikoallele (G-Allel, respektive T-Allel) von rs1079727 und rs2283265 eine erhöhte Expression der D_{2L}-Isoform (postsynaptisch) und eine verringerte Expression der D_{2S}-Isoform (primär präsynaptisch) im Frontallappen beschrieben (Zhang et al., 2007, Vercammen et al., 2014). Bildgebend zeigten Schizophrenieprobanden mit dem T-Allel von rs2283265 eine erhöhte zerebrale Aktivität (Zhang et al., 2007). Zudem wurde bei Schizophreniepatienten ein erhöhter Spiegel von D_{2S} und ein erniedrigter Spiegel von zu D_{2L} nachgewiesen (Kaalund et al., 2014). Interessanterweise ist das mit der wiederholt abgebildeten kognitiven Leistungseinschränkung einhergehende Spleißexpressionsmuster invers zur Bildgebung. Die Beobachtung, dass eine kognitive Einschränkung mit gegensätzlicher phänotypischer Manifestation bei Patienten und Gesunden auftritt, veranlasste bereits Bertolino et. al zur Annahme, dass dies – nach Ausschluss eines pharmakologischen Einflusses – auf einen anderen unbekannten Polymorphismus oder krankheits-assoziierten Faktor zurückzuführen sein dürfte (Bertolino et al., 2009). Die These von weiteren interagierenden Polymorphismen wird durch eine Studie von Vercammen et al. bestärkt. Heterozygote TG-Trägern von rs2283265 mit einer zusätzlichen Mutation des Catechol-O-Methyltransferase-Gens (COMT) zeigten in der Bildgebung eine präfrontale kortikale Hypoaktivität, die eine große Ähnlichkeit mit der präfrontalen kortikalen Aktivität von

Schizophreniepatienten aufweist (Vercammen et al., 2014). Somit kann man annehmen, dass das T-Allel des SNPs rs2283265 tatsächlich mit Schizophrenie und verminderter kognitiver Leistung assoziiert ist.

Die Testung auf den Phänotyp Gedächtnisleistung mit dem WMS-R hat mehrere Limitationen. Zum Ersten könnte eine parallele Therapie mit antipsychotischen Medikamenten die Gedächtnisleistung negativ beeinflussen. So zeigten Patienten mit dem oralen Neuroleptikum Risperidon ein besseres Abschneiden in vielen kognitiven Bereichen - unter anderem bei visuellem Gedächtnis und Aufmerksamkeit / Konzentration (Houthoofd et al., 2008). So haben Neuroleptika Einfluss auf die striatale D₂-Rezeptordichte bei kognitiven Aufgaben (Yang et al., 2004). In bildgebenden Untersuchungen zeigte sich, dass mit höherer Neuroleptika Dosis eine verringerte Aktivität des präfrontalen Cortex assoziiert ist (Vercammen et al., 2014). Zweitens wurde das Geschlecht der Versuchsteilnehmer als Kovariable berücksichtigt, jedoch nicht getrennt ausgewertet. Das liegt unter anderem daran, dass das Geschlecht im WMS-R bei der Normierung unberücksichtigt bleibt, da sich Männer und Frauen während der Normierung nicht signifikant in ihren Ergebnissen unterscheiden (Härting et al., 2000). In Studien mit gesunden Versuchsteilnehmern zeigte sich, dass Frauen besser bei verbalem Lernen und Gedächtnis abschneiden als Männer (Munro et al., 2012) und dieser Effekt – wenn auch auf niedrigerem Niveau – bei Schizophreniepatienten vorhanden ist (Bozikas et al., 2010). Die Fälle waren nicht geschlechtsgematcht. Es fanden sich 62,9 Prozent Männer und 37,1 Prozent Frauen in der Studie, was tendenziell höhere Effektmaße hervorruft (Schaefer et al., 2013). Drittens ist unklar, inwieweit die Gedächtnistestung im WMS-R einen validen Endophänotyp für Schizophrenie darstellt. Die Evidenz eines Zusammenhangs zwischen generalisierter kognitiver Beeinträchtigung und Schizophrenie ist durch umfangreiche Studien belegt worden (Schaefer et al., 2013). Daher kann davon ausgegangen werden, dass Gedächtnisdefizite einen geeigneten Endophänotyp darstellen. Unklar ist jedoch, inwieweit diese Defizite valide durch den WMS-R abgebildet werden. Eine Faktorenanalyse weist auf die in sich kongruenten Komponenten verbales Gedächtnis, Aufmerksamkeit / Konzentration und visuelles Gedächtnis hin, wobei letzteres möglicherweise durch weitere externe Faktoren beeinflusst wird (Moore und Baker, 1997). Daher muss

insbesondere die Assoziation von rs7131056 und dem visuellen Gedächtnis in weiteren Studien repliziert werden.

4.3.3 Haplotyp-Analyse

Erstmals wurde eine Analyse der Haplotyp-Analyse auf Assoziation mit Gedächtnisleistung (im WMS-R) durchgeführt. Die Auswertung der Kopplungsmuster ergab zwei Haplo-Blöcke, deren SNPs sich untereinander im Kopplungsungleichgewicht befanden. Der Haplo-Block 2 umfasst 4 SNPs vom 5' Ende des DRD2-Gens bis zur Mitte von Intron 1 und Haplo-Block 1 mit 14 Marker von der Mitte von Intron 1 bis zum 3' Ende des Gens. Von der Analyse ausgeklammert wurden die SNPs rs1801028 und rs10891552, die Aufgrund der geringen MAF nicht einbezogen wurden. Zwischen den beiden Blocks liegt der SNP rs4274224. Diese Ergebnisse stimmen mit den Ergebnissen der Haplotyp-Analyse von Glatt et al. weitestgehend überein. Die Grenzen von Haplo-Block 2 sind identisch, Block 1 wurde in drei Sub-Blöcke unterteilt (Glatt et al., 2009). Ein SNP, rs1110977, der zwei Sub-Blöcke abgrenzte, wurde nicht untersucht. Es wäre daher denkbar, dass der hier überwiegend homogene Haploblock 1 tatsächlich gespalten ist. Um das zu klären, bedarf es weiterer Studiendaten.

Der in der Einzelanalyse signifikant mit visuellem Gedächtnis assoziierte SNP rs7131056 liegt in der Haplotyp-Analyse im Kopplungsungleichgewicht. Für alle drei gekoppelte SNPs ist ebenfalls kein Zusammenhang mit Schizophrenie berichtet worden. Für den Haplotyp 1 (rs4460839 T-Allel, rs7122454 G-Allel, rs7131056 C-Allel und rs11214613 G-Allel) liegen tendenziell signifikant bessere Werte beim Abschneiden des visuellen Gedächtnisses vor. Im Vergleich zu Haplotyp 3 ist nur das Allel von SNP rs7131056 gleich bei Änderung des Scores. Es ist daher anzunehmend, dass der hervorgerufene Effekt durch weitere SNPs – nicht nur rs7131056 - vermittelt wird.

Der Haplotyp 5 aus Block 1 (TCCTGCAGATGACC) war in der Analyse zudem signifikant mit besserer Leistung bei visuellem Gedächtnis assoziiert. In der Einzel-SNP-Analyse war diesbezüglich keine signifikante Assoziation feststellbar. Es ist anzunehmen, dass der Gesamteffekt durch Addition mehrerer Einzeleffekte zustande kommt.

Alle vier mit Aufmerksamkeit / Konzentration assoziierten SNPs liegen laut Haplo-Block Analyse miteinander im Kopplungsungleichgewicht. Weitere SNPs des

Haplo-Blockes sind rs2734841, rs1124492, rs6277, rs6275, rs2440390, rs4587762, rs17115583, rs4648318, rs12574471. Je ein Haplotyp war dabei mit tendenziell signifikant besseren (GCTCGCAGATGACC, Trend) und schlechteren Gedächtnisleistungen (GCCCTCGTGTGATC, Trend) assoziiert. Alle vier SNPs vermitteln dabei den Effekt, bei dem das jeweils seltenere Risikoallel mit schlechteren Aufmerksamkeit / Konzentrationsleistungen assoziiert war. Werden die beiden Haplotypen miteinander verglichen, so unterscheiden sich die beiden Typen an sechs Positionen: rs6277, rs2283265, rs1079727, rs7350522, rs4587762 und rs4648319.

Für den im Kopplungsungleichgewicht liegenden SNP rs6277 (C > T, Exon 7) werden in der Literatur wiederholt Assoziationen mit besseren Leistungen im Arbeitsgedächtnis beschrieben (Xu et al., 2007, Rodriguez-Jimenez et al., 2006). In der vorliegenden Studie zeigten sich lediglich im Subtest Blockspanne (Ergebnis nicht abgebildet) ein besseres Abschneiden von T-Allel Trägern, ohne jedoch die nötige Signifikanz in der Hauptskala zu erreichen. Dieser in Ansätzen positive Befund könnte auf eingeschränkte Trennschärfe der Studie wegen des kleinen Effektmaßes zurückzuführen sein und weist tendenziell in Richtung auf zu diesem Thema veröffentlichter Arbeiten, die dem T-Allel eine protektive Wirkung bei Schizophrenie zusprechen (Mi et al., 2011). Studien zufolge geht das T-Allel im Gegensatz zum C-Allel mit verminderter Synthesen und Stabilität von DRD2 mRNA und D₂-Rezeptor Synthese einher. Die entsprechend niedrigeren Level an mRNA führen möglicherweise zu einer schwächeren Signalweiterleitung durch dopaminerge Reize (Duan et al., 2003).

4.4 Ausblick auf zukünftige Untersuchungen

Die Nutzung der Diagnose als Phänotyp hat bislang keine zufriedenstellenden Antworten geliefert. Das liegt unter anderem an genetischen und klinischen Limitationen wie der genetischen Heterogenität mit zahlreichen involvierten Loci und komplex interagierenden Genen und Genprodukten und der mangelnden Validität des Krankheitsphänotyps (Bertolino et al., 2009).

Die erste Limitation bei der Erforschung der Schizophrenie liegt in der komplexen genetischen Architektur, die die Suche nach Suszeptibilitätsgenen erschwert. Heute scheint klar, dass die Krankheit durch additive Wirkung von mehreren oder

vielen miteinander interagierenden Genen verursacht wird. Dabei hat jedes Gen für sich nur einen geringen Einfluss, das je nach Funktion auch nur durch zusätzliche Modifizierung durch andere Gene auffällig wird. Die Komplexität des Musters in Gestalt eines Mosaiks aus vielen kleinen, interindividuell verschiedenen Genen macht verständlich, warum so viele Studien keine replizierbaren Ergebnisse produziert haben.

Die hier vorliegende Studie war nur eingeschränkt in der Lage, frühere Studienergebnisse zu replizieren. Es zeigte sich eine Assoziation des Markers rs1801028 und Trends zur Assoziation der Marker rs1079727 und rs4586205 mit Schizophrenie. Die Assoziation des Polymorphismus rs1801028 steht in Kontrast zu mehreren Studien, darunter auch vier Meta-Analysen. Eine Assoziation von rs1079727 wurde bereits beschrieben (Glatt et al., 2009). Erstmalig wird von einer möglichen Assoziation des Markers rs4586205 berichtet. Werden Berechnungen berücksichtigt, nach denen über 95 Prozent aller früheren Studienergebnisse als falschpositive Ergebnisse gewertet werden müssen (Colhoun et al., 2003), so sind die Ergebnisse der hier vorliegenden Studie erst mit positiver Replikation in weiteren Studien als valide zu betrachten.

Trotz der Schwierigkeiten bei der Suche nach genetischen Ursachen herrscht verstärkter Optimismus. Dafür sind mehrere Gründe mitverantwortlich. Erstens erlauben es die Fortschritte in der modernen Gentechnologie, zunehmend effizientere und kostengünstigere SNP-Analysen mit hohem Durchsatz durchzuführen. Das hat es in den letzten Jahren ermöglicht, GWAS mit Millionen untersuchter SNPs bei tausenden von Probanden durchzuführen. Das führte zu unerwarteten Assoziationen bei Polymorphismen, die bisher mangels Kandidatengenstatus in Assoziationsstudien ausgespart wurden. Zweitens intensiviert sich die internationale Zusammenarbeit von Forschungsgruppen. Die Etablierung eines gemeinsamen Datenpools unter Leitung des Psychiatric Genomics Consortium (PGC) schafft endlich eine ausreichende Studienpower, um auch schwache Effektmaße zu entdecken (Wright, 2014). In der Vergangenheit scheiterten Assoziationsstudien häufig daran, eine ausreichende Power zur Detektion einer genomweiten Signifikanz oder zur Replikation zuvor publizierter Ergebnisse zu erreichen (Insel, 2010). Drittens können die zur Assoziation nötigen Testkriterien und Statistikverfahren langsam als ausgereift betrachtet werden (Flint

und Munafo, 2014). Dadurch sollten in Zukunft die methodischen Fehler der letzten Jahrzehnte vermieden werden.

Es bleibt trotz der robusten statistischen Power der neuen Studien abzuwarten, ob die biologische Plausibilität und Spezifität ausreicht, um die einzelnen Varianten der Schizophrenie zu diagnostizieren (Bertolino et al., 2009).

Die zweite Limitation bei der Ursachenforschung der Schizophrenie liegt in der klinischen Heterogenität der Erkrankung. So basiert die Bestimmung des Krankheitsphänotyps nach wie vor auf einer Sammlung von Symptomen (z.B. Halluzination und Wahn). Diese Symptome präsentieren sich für den Untersucher gut nachvollziehbar und reliabel, zeigen sich jedoch sowohl im zeitlichen Verlauf, als auch zwischen einzelnen Erkrankten mit wechselhafter Ausprägung ohne biologische Validität oder Validierung. Zudem sind alle Symptome nicht scharf auf die Schizophrenie begrenzt, d.h. charakteristisch für die Erkrankung, sondern sind auch bei anderen schweren Formen von Psychose oder psychiatrischen Störungen wie zum Beispiel Depression anzutreffen (Bertolino et al., 2009). Die Begrenzung des Krankheitsbildes anhand der klinischen Kriterien ist für die klinische Praktikabilität vorteilhaft, erschwert jedoch die weitere Forschung. Dass die Einteilung in die Unterformen der Schizophrenie (hebephrene, paranoide, katatone Unterform) wegen fehlender therapeutischer Relevanz zunehmend verlassen wird, kann als exemplarisch für die Problematik gesehen werden (Braff et al., 2013).

Es wäre denkbar, Psychose nicht nur auf Basis von Wahn und Halluzinationen zu definieren, sondern in einem weiter gefassten Rahmen als Realitätsverlust zu sehen, in die auch andere schwere Formen psychischer Störungen einfließen. Einige Autoren gehen sogar soweit, von einem Kontinuum der „Psychose“ zu sprechen, das alle Störungen graduell unter diesem Oberbegriff fasst (Bertolino et al., 2009).

Die hier vorliegende Studie beschreitet diesen Weg, indem sie nach Assoziationen mit dem Endophänotyp Kognition sucht, der als vielversprechende neurobiologische Kenngröße gilt. Die Validität des hier zur kognitiven Testung verwendeten WMS-R muss dazu in weiteren Studien überprüft werden. Die Ergebnisse der erstmalig berichteten Assoziationen von rs7131056, rs4648319 und rs7350522 mit kognitiven Defiziten bedürfen einer Replikation in weiteren

Studien, gegebenenfalls unter Verwendung ähnlich reliabler und besser validierter Tests wie dem California Verbal Learning Memory Test (CVLMT).

Die durch zukünftige genetische Assoziationsstudien gefundenen Ergebnisse könnten Licht auf Reaktionswege bringen, die in das Krankheitsgeschehen involviert sind und neue Ziele für therapeutische Interventionen identifizieren. Das Wissen könnte dazu dienen, die Diagnose zu verbessern oder den Einsatz von Therapeutika effizienter und nebenwirkungsärmer zu machen. Bislang haben wenige genetische Tests dieses Einsatzlevel erreicht, was sich in Zukunft ändern könnte. Der wahrscheinlichste kurzfristige klinische Effekt liegt in der verbesserten Risikostratifizierung und der Möglichkeit, Patienten detailliertere Informationen bezüglich ihrer Prognose zu geben (Attia et al., 2009a).

5 Zusammenfassung

Schizophrenie ist eine relevante und schwerwiegende psychiatrische Erkrankung, die in der Bevölkerung eine Prävalenz von bis zu einem Prozent hat.

Es wird von einer Hirnentwicklungsstörung ausgegangen, die mit Veränderungen bei der Ausreifung und Funktion neuronaler Schaltkreise einhergeht. Für eine gezieltere und frühere Therapie ist die Aufklärung der zugrundeliegenden Genetik und der damit verbundenen molekularen Signalwege notwendig.

Eine Schlüsselrolle hat der Dopaminstoffwechsel, was durch dessen Rolle als ein Ansatzpunkt für die medikamentöse Therapie der Schizophrenie verdeutlicht wird. Das den D₂-Rezeptor codierende Gen, DRD2, wurde früh und konsistent mit Schizophrenie in Verbindung gebracht. Zuletzt bestätigte sich das in der bislang größten genomweiten Assoziationsstudie. Da Schizophrenie mit Defiziten der Gedächtnisleistung einhergeht, gilt Kognition als vielversprechender Endophänotyp der Erkrankung.

Zur weiteren Untersuchung dieses Zusammenhangs wurden bei 3272 Kaukasiern 21 Polymorphismen des DRD2 Gens genotypisiert und auf eine Assoziation mit dem Phänotyp Schizophrenie getestet. Eine Untergruppe von 884 Probanden wurde genotypisiert und auf eine Assoziation mit Gedächtnisleistung geprüft, deren Werte durch eine Testbatterie (Wechsler Memory Test in revidierter Fassung; WMS-R (dt.)) erhoben wurden.

Eine signifikante Assoziation mit Schizophrenie zeigten die SNPs rs1801028 und rs10891552. Beide SNPs waren mit einer geringen minoren Allelfrequenz von 0,02 und 0,03 vertreten. Das minore Allel zeigte dabei einen protektiven Effekt für rs1801028 und einen risikosteigernden Effekt bei rs10891552. Ein Trend zur Signifikanz zeigte sich für rs1079727 und rs4586205. Das minore Allel trat hier jeweils tendenziell gehäuft bei Schizophreniepatienten auf.

In der kognitiven Testung war das A-Allel des SNPs rs7131056 signifikant mit schlechterem Abschneiden in der Kategorie visuelles Gedächtnis assoziiert. Die SNPs rs4648319 (G-Allel) und rs7350522 (T-Allel) waren signifikant mit schlechterem Abschneiden in der Kategorie Aufmerksamkeit / Konzentration assoziiert. Die Marker rs1079727 und rs2283265 zeigten einen Trend zur Signifikanz in der Kategorie Aufmerksamkeit / Konzentration.

Die Haplotyp Analyse ergab zwei Blöcke von 14 und 4 SNPs (SNP Block 1: rs2734841, rs1124492, rs6277, rs6275, rs2283265, rs2440390, rs1079727, rs7350522, rs4587762, rs17115583, rs4648318, rs4648319 und rs12574471; SNP Block 2 rs4460839, rs7122454, rs7131056 und rs11214613) mit der Kategorie war. Der Haplotyp TCCTGCAGATGACC war mit einem besseren visuellen Gedächtnis im WMS-R assoziiert, der Haplotyp TGCG mit einem Trend zur Signifikanz. Der Haplotyp GCTCGCAGATGACC war mit einem besseren und der Haplotyp GCCCTCGTGTGATC mit einem schlechteren Abschneiden in der WMS-R Kategorie Aufmerksamkeit / Konzentration assoziiert

Der Vergleich der beiden Haplotypen zeigte, dass das minore Allel von sechs SNPs (rs6277, rs2283265, rs1079727, rs7350522, rs4587762 und rs4648319) mit der schlechteren Leistung assoziiert ist. Diese SNPs stellen somit sinnvolle Ziele für weiterer Untersuchungen dar.

Die Ergebnisse bedürfen weiterer Bestätigung durch Replikation in weiteren Studien.

6 Abkürzungsverzeichnis

cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
CNV	Kopienzahlvariation
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
CT	Computertomographie
ddNTPs	Didesoxynukleosidtriphosphat
DISC1	Disrupted-in-Schizophrenia-1-Gen
dNTPs	Desoxynukleosidtriphosphat
(f)MRT	(funktionelle) Magnetresonanztomographie
FHAM	Family History Assessment Module
GABA	Gamma-Aminobuttersäure
GHCI	Guanidinhydrochlorid
GWAS	genomweite Assoziationsstudien
GWLS	genomweite Kopplungsstudien
HAWIE	Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene
HWE	Hardy-Weinberg-Gleichgewicht
kb	Kilobasen (1000 Basenpaare)
LD	Kopplungsungleichgewicht
LEBI	Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar
MAF	Minimale Allelfrequenz
MHC-Komplex	Haupthistokompatibilitätskomplex
MMST	Mini-Mental-Status-Test
mRNA	messenger RNA
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PET	Positronen-Emissionstomographie
PFC	präfrontalen Kortex
rpm	<i>revolutions per minute</i> , Umdrehungen pro Minute
SKID	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV
SNP	Einzelnukleotid-Polymorphismus
SPECT	Einzelphotonen-Emissionscomputertomographie
VTA	Area ventralis tegmentalis
WMS-R	Wechsler Memory Scale Revised
WMS-R (dt.)	Wechsler Gedächtnistest - Revidierte Fassung (deutsch)
ZNS	Zentralnervensystem

7 Literaturverzeichnis

- Abi-Dargham, A., Xu, X., Thompson, J. L., Gil, R., Kegeles, L. S., Urban, N., Narendran, R., Hwang, D. R., Laruelle, M. und Slifstein, M. (2012) 'Increased prefrontal cortical D(1) receptors in drug naive patients with schizophrenia: a PET study with [(1)(1)C]NNC112', *J Psychopharmacol*, 26(6), pp. 794-805.
- Albizu, L., Holloway, T., Gonzalez-Maeso, J. und Sealfon, S. C. (2011) 'Functional crosstalk and heteromerization of serotonin 5-HT_{2A} and dopamine D₂ receptors', *Neuropharmacology*, 61(4), pp. 770-7.
- Allen, N. C., Bagade, S., McQueen, M. B., Ioannidis, J. P., Kavvoura, F. K., Khoury, M. J., Tanzi, R. E. und Bertram, L. (2008) 'Systematic meta-analyses and field synopsis of genetic association studies in schizophrenia: the SzGene database', *Nat Genet*, 40(7), pp. 827-34.
- an der Heiden, W., Konnecke, R., Maurer, K., Ropeter, D. und Hafner, H. (2005) 'Depression in the long-term course of schizophrenia', *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 255(3), pp. 174-84.
- Andreasen, N. C. (1982) 'Negative symptoms in schizophrenia. Definition and reliability', *Arch Gen Psychiatry*, 39(7), pp. 784-8.
- Andreasen, N. C., Carpenter, W. T., Jr., Kane, J. M., Lasser, R. A., Marder, S. R. und Weinberger, D. R. (2005) 'Remission in schizophrenia: proposed criteria and rationale for consensus', *Am J Psychiatry*, 162(3), pp. 441-9.
- Arinami, T., Itokawa, M., Enguchi, H., Tagaya, H., Yano, S., Shimizu, H., Hamaguchi, H. und Toru, M. (1994) 'Association of dopamine D₂ receptor molecular variant with schizophrenia', *Lancet*, 343(8899), pp. 703-4.
- Asherson, P., Williams, N., Roberts, E., McGuffin, M. und Owen, M. (1994) 'DRD2 Ser311/Cys311 polymorphism in schizophrenia', *Lancet*, 343(8904), pp. 1045.
- Athanasios, L., Mattingsdal, M., Kahler, A. K., Brown, A., Gustafsson, O., Agartz, I., Giegling, I., Muglia, P., Cichon, S., Rietschel, M., Pietilainen, O. P., Peltonen, L., Bramon, E., Collier, D., Clair, D. S., Sigurdsson, E., Petursson, H., Rujescu, D., Melle, I., Steen, V. M., Djurovic, S. und Andreassen, O. A. (2010) 'Gene variants associated with schizophrenia in a Norwegian genome-wide study are replicated in a large European cohort', *J Psychiatr Res*, 44(12), pp. 748-53.
- Atkinson, R. C. und Shiffrin, R. M. (1968) 'Chapter: Human memory: A proposed system and its control processes', *The psychology of learning and motivation*, 2, pp. pp. 89-195.
- Attia, J., Ioannidis, J. P., Thakkinian, A., McEvoy, M., Scott, R. J., Minelli, C., Thompson, J., Infante-Rivard, C. und Guyatt, G. (2009a) 'How to use an article about genetic association: A: Background concepts', *Jama*, 301(1), pp. 74-81.
- Attia, J., Ioannidis, J. P., Thakkinian, A., McEvoy, M., Scott, R. J., Minelli, C., Thompson, J., Infante-Rivard, C. und Guyatt, G. (2009b) 'How to use an article about genetic association: B: Are the results of the study valid?', *Jama*, 301(2), pp. 191-7.
- Attia, J., Thakkinian, A., McElduff, P., Milne, E., Dawson, S., Scott, R. J., Klerk, N., Armstrong, B. und Thompson, J. (2010) 'Detecting genotyping error using measures of degree of Hardy-Weinberg disequilibrium', *Stat Appl Genet Mol Biol*, 9, pp. Article 5.
- Austin, S. F., Mors, O., Budtz-Jorgensen, E., Secher, R. G., Hjorthoj, C. R., Bertelsen, M., Jeppesen, P., Petersen, L., Thorup, A. und Nordentoft, M. (2015) 'Long-term trajectories of positive and negative symptoms in first episode psychosis: A 10year follow-up study in the OPUS cohort', *Schizophr Res*.

- Ayalew, M., Le-Niculescu, H., Levey, D. F., Jain, N., Changala, B., Patel, S. D., Winiger, E., Breier, A., Shekhar, A., Amdur, R., Koller, D., Nurnberger, J. I., Corvin, A., Geyer, M., Tsuang, M. T., Salomon, D., Schork, N. J., Fanous, A. H., O'Donovan, M. C. und Niculescu, A. B. (2012) 'Convergent functional genomics of schizophrenia: from comprehensive understanding to genetic risk prediction', *Mol Psychiatry*, 17(9), pp. 887-905.
- Babenko, O., Kovalchuk, I. und Metz, G. A. (2015) 'Stress-induced perinatal and transgenerational epigenetic programming of brain development and mental health', *Neurosci Biobehav Rev*, 48, pp. 70-91.
- Barch, D. M., Braver, T. S., Carter, C. S., Poldrack, R. A. und Robbins, T. W. (2009) 'CNTRICS final task selection: executive control', *Schizophr Bull*, 35(1), pp. 115-35.
- Barrett, J. C., Fry, B., Maller, J. und Daly, M. J. (2005) 'Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps', *Bioinformatics*, 21(2), pp. 263-5.
- Bayer, T. A., Falkai, P. und Maier, W. (1999) 'Genetic and non-genetic vulnerability factors in schizophrenia: the basis of the "two hit hypothesis"', *J Psychiatr Res*, 33(6), pp. 543-8.
- Beaulieu, J. M., Espinoza, S. und Gainetdinov, R. R. (2015) 'Dopamine receptors - IUPHAR Review 13', *Br J Pharmacol*, 172(1), pp. 1-23.
- Beaulieu, J. M. und Gainetdinov, R. R. (2011) 'The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors', *Pharmacol Rev*, 63(1), pp. 182-217.
- Beggiato, S., Antonelli, T., Tomasini, M. C., Borelli, A. C., Agnati, L. F., Tanganelli, S., Fuxe, K. und Ferraro, L. (2014) 'Adenosine A2A-D2 receptor-receptor interactions in putative heteromers in the regulation of the striato-pallidal gaba pathway: possible relevance for parkinson's disease and its treatment', *Curr Protein Pept Sci*, 15(7), pp. 673-80.
- Bergen, A. W., Conti, D. V., Berg, D. V. D., Lee, W., Liu, J., Li, D., Guo, N., Mi, H., Thomas, P. D., Lessov-Schlaggar, C. N., Krasnow, R., He, Y., Nishita, D., Jiang, R., McClure, J. B., Tildesley, E., Hops, H., Tyndale, R. F., Benowitz, N. L., Lerman, C. und Swan, G. E. (2009) 'Dopamine genes and nicotine dependence in treatment seeking and community smokers', *Neuropsychopharmacology*, 34(10), pp. 2252-64.
- Bertolino, A., Fazio, L., Caforio, G., Blasi, G., Rampino, A., Romano, R., Di Giorgio, A., Taurisano, P., Papp, A., Pinsonneault, J., Wang, D., Nardini, M., Popolizio, T. und Sadee, W. (2009) 'Functional variants of the dopamine receptor D2 gene modulate prefronto-striatal phenotypes in schizophrenia', *Brain*, 132(Pt 2), pp. 417-25.
- Berton, O., McClung, C. A., Dileone, R. J., Krishnan, V., Renthal, W., Russo, S. J., Graham, D., Tsankova, N. M., Bolanos, C. A., Rios, M., Monteggia, L. M., Self, D. W. und Nestler, E. J. (2006) 'Essential role of BDNF in the mesolimbic dopamine pathway in social defeat stress', *Science*, 311(5762), pp. 864-8.
- Betcheva, E. T., Mushiroda, T., Takahashi, A., Kubo, M., Karachanak, S. K., Zaharieva, I. T., Vazharova, R. V., Dimova, I., Milanova, V. K., Tolev, T., Kirov, G., Owen, M. J., O'Donovan, M. C., Kamatani, N., Nakamura, Y. und Toncheva, D. I. (2009) 'Case-control association study of 59 candidate genes reveals the DRD2 SNP rs6277 (C957T) as the only susceptibility factor for schizophrenia in the Bulgarian population', *J Hum Genet*, 54(2), pp. 98-107.
- Bora, E. (2015) 'Neurodevelopmental origin of cognitive impairment in schizophrenia', *Psychological Medicine*, 45(01), pp. 1-9.
- Borecki, I. B. und Province, M. A. (2008) 'Linkage and association: basic concepts', *Adv Genet*, 60, pp. 51-74.
- Bossong, M. G., van Berckel, B. N., Boellaard, R., Zuurman, L., Schuit, R. C., Windhorst, A. D., van Gerven, J. M., Ramsey, N. F., Lammertsma, A. A. und Kahn, R. S. (2009) 'Delta 9-tetrahydrocannabinol induces dopamine release in the human striatum', *Neuropsychopharmacology*, 34(3), pp. 759-66.

- Bourque, F., van der Ven, E. und Malla, A. (2011) 'A meta-analysis of the risk for psychotic disorders among first- and second-generation immigrants', *Psychol Med*, 41(5), pp. 897-910.
- Bowie, C. R. und Harvey, P. D. (2005) 'Cognition in schizophrenia: impairments, determinants, and functional importance', *Psychiatr Clin North Am*, 28(3), pp. 613-33, 626.
- Bozikas, V. P. und Andreou, C. (2011) 'Longitudinal studies of cognition in first episode psychosis: a systematic review of the literature', *Aust N Z J Psychiatry*, 45(2), pp. 93-108.
- Bozikas, V. P., Kosmidis, M. H., Peltekis, A., Giannakou, M., Nimatoudis, I., Karavatos, A., Fokas, K. und Garyfallos, G. (2010) 'Sex differences in neuropsychological functioning among schizophrenia patients', *Aust N Z J Psychiatry*, 44(4), pp. 333-41.
- Braff, D. L., Ryan, J., Rissling, A. J. und Carpenter, W. T. (2013) 'Lack of Use in the Literature From the Last 20 Years Supports Dropping Traditional Schizophrenia Subtypes From DSM-5 and ICD-11', *Schizophrenia Bulletin*, 39(4), pp. 751-753.
- Bresnahan, M., Begg, M. D., Brown, A., Schaefer, C., Sohler, N., Insel, B., Vella, L. und Susser, E. (2007) 'Race and risk of schizophrenia in a US birth cohort: another example of health disparity?', *Int J Epidemiol*, 36(4), pp. 751-8.
- Bromberg, K. D., Iyengar, R. und He, J. C. (2008) 'Regulation of neurite outgrowth by G(i/o) signaling pathways', *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library*, 13, pp. 4544-4557.
- Brown, A. S. und Derkits, E. J. (2010) 'Prenatal infection and schizophrenia: a review of epidemiologic and translational studies', *Am J Psychiatry*, 167(3), pp. 261-80.
- Cannon, T. D. (2005) 'The inheritance of intermediate phenotypes for schizophrenia', *Curr Opin Psychiatry*, 18(2), pp. 135-40.
- Caspi, A., Moffitt, T. E., Cannon, M., McClay, J., Murray, R., Harrington, H., Taylor, A., Arseneault, L., Williams, B., Braithwaite, A., Poulton, R. und Craig, I. W. (2005) 'Moderation of the effect of adolescent-onset cannabis use on adult psychosis by a functional polymorphism in the catechol-O-methyltransferase gene: longitudinal evidence of a gene X environment interaction', *Biol Psychiatry*, 57(10), pp. 1117-27.
- Celofiga, A., Koprivsek, J. und Klavz, J. (2014) 'Use of synthetic cannabinoids in patients with psychotic disorders: case series', *J Dual Diagn*, 10(3), pp. 168-73.
- Cepeda, C. und Levine, M. S. (1998) 'Dopamine and N-methyl-D-aspartate receptor interactions in the neostriatum', *Dev Neurosci*, 20(1), pp. 1-18.
- Chan, R. C. und Gottesman, II (2008) 'Neurological soft signs as candidate endophenotypes for schizophrenia: a shooting star or a Northern star?', *Neurosci Biobehav Rev*, 32(5), pp. 957-71.
- Clarke, M. C., Tanskanen, A., Huttunen, M., Whittaker, J. C. und Cannon, M. (2009) 'Evidence for an interaction between familial liability and prenatal exposure to infection in the causation of schizophrenia', *Am J Psychiatry*, 166(9), pp. 1025-30.
- Colhoun, H. M., McKeigue, P. M. und Davey Smith, G. (2003) 'Problems of reporting genetic associations with complex outcomes', *Lancet*, 361(9360), pp. 865-72.
- Congreve, M. und Marshall, F. (2010) 'The impact of GPCR structures on pharmacology and structure-based drug design', *British Journal of Pharmacology*, 159(5), pp. 986-996.
- Consortium, C.-D. G. o. t. P. G. (2013) 'Identification of risk loci with shared effects on five major psychiatric disorders: a genome-wide analysis', *Lancet*, 381(9875), pp. 1371-9.
- Cougnard, A., Marcelis, M., Myin-Germeys, I., De Graaf, R., Vollebergh, W., Krabbendam, L., Lieb, R., Wittchen, H. U., Henquet, C., Spauwen, J. und Van Os, J. (2007) 'Does normal developmental expression of psychosis

- combine with environmental risk to cause persistence of psychosis? A psychosis proneness-persistence model', *Psychol Med*, 37(4), pp. 513-27.
- Courchesne, E., Chisum, H. J., Townsend, J., Cowles, A., Covington, J., Egaas, B., Harwood, M., Hinds, S. und Press, G. A. (2000) 'Normal brain development and aging: quantitative analysis at in vivo MR imaging in healthy volunteers', *Radiology*, 216(3), pp. 672-82.
- Cowan, N. (2008) 'What are the differences between long-term, short-term, and working memory?', *Progress in brain research*, 169, pp. 323-338.
- Cox, D. G. und Kraft, P. (2006) 'Quantification of the power of Hardy-Weinberg equilibrium testing to detect genotyping error', *Hum Hered*, 61(1), pp. 10-4.
- Coyle, J. T. (2006) 'Glutamate and schizophrenia: beyond the dopamine hypothesis', *Cell Mol Neurobiol*, 26(4-6), pp. 365-84.
- Cravchik, A., Sibley, D. R. und Gejman, P. V. (1996) 'Functional analysis of the human D2 dopamine receptor missense variants', *J Biol Chem*, 271(42), pp. 26013-7.
- Cropley, V. L., Fujita, M., Innis, R. B. und Nathan, P. J. (2006) 'Molecular Imaging of the Dopaminergic System and its Association with Human Cognitive Function', *Biological Psychiatry*, 59(10), pp. 898-907.
- Cutajar, M. C., Mullen, P. E., Ogloff, J. R., Thomas, S. D., Wells, D. L. und Spataro, J. (2010) 'Schizophrenia and other psychotic disorders in a cohort of sexually abused children', *Arch Gen Psychiatry*, 67(11), pp. 1114-9.
- D'Souza, D. C., Abi-Saab, W. M., Madonick, S., Forselius-Bielen, K., Doersch, A., Braley, G., Gueorguieva, R., Cooper, T. B. und Krystal, J. H. (2005) 'Delta-9-tetrahydrocannabinol effects in schizophrenia: implications for cognition, psychosis, and addiction', *Biol Psychiatry*, 57(6), pp. 594-608.
- Davis, K. L., Kahn, R. S., Ko, G. und Davidson, M. (1991) 'Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization', *Am J Psychiatry*, 148(11), pp. 1474-86.
- De Mei, C., Ramos, M., Litaka, C. und Borrelli, E. (2009) 'Getting specialized: presynaptic and postsynaptic dopamine D2 receptors', *Curr Opin Pharmacol*, 9(1), pp. 53-8.
- Debnath, M., Venkatasubramanian, G. und Berk, M. (2014) 'Fetal programming of schizophrenia: select mechanisms', *Neurosci Biobehav Rev*.
- DeLisi, L. E. (2008) 'The Concept of Progressive Brain Change in Schizophrenia: Implications for Understanding Schizophrenia', *Schizophrenia Bulletin*, 34(2), pp. 312-321.
- Di Forti, M., Morgan, C., Dazzan, P., Pariante, C., Mondelli, V., Marques, T. R., Handley, R., Luzi, S., Russo, M., Paparelli, A., Butt, A., Stilo, S. A., Wiffen, B., Powell, J. und Murray, R. M. (2009) 'High-potency cannabis and the risk of psychosis', *Br J Psychiatry*, 195(6), pp. 488-91.
- Dickinson, D., Ramsey, M. E. und Gold, J. M. (2007) 'Overlooking the obvious: a meta-analytic comparison of digit symbol coding tasks and other cognitive measures in schizophrenia', *Arch Gen Psychiatry*, 64(5), pp. 532-42.
- Dickson, H., Laurens, K. R., Cullen, A. E. und Hodgins, S. (2012) 'Meta-analyses of cognitive and motor function in youth aged 16 years and younger who subsequently develop schizophrenia', *Psychol Med*, 42(4), pp. 743-55.
- Dilling, H. (2011) *Internationale Klassifikation psychischer Störungen*. 8., überarb. Aufl. unter Berücks. der Änderungen entsprechend ICD-10-GM 2011 edn. Bern: Huber.
- DIMDI, d. I. f. M. D. u. I. (2013) *ICD-10-GM: Die Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme, 10. Revision, German Modifikation Version 2013*. Available at: (Accessed: 08.08 2014).
- Dominguez Mde, G., Viechtbauer, W., Simons, C. J., van Os, J. und Krabbendam, L. (2009) 'Are psychotic psychopathology and neurocognition orthogonal? A systematic review of their associations', *Psychol Bull*, 135(1), pp. 157-71.
- Douaud, G., Mackay, C., Andersson, J., James, S., Quested, D., Ray, M. K., Connell, J., Roberts, N., Crow, T. J., Matthews, P. M., Smith, S. und James,

- A. (2009) 'Schizophrenia delays and alters maturation of the brain in adolescence', *Brain*, 132(Pt 9), pp. 2437-48.
- Duan, J., Wainwright, M. S., Comeron, J. M., Saitou, N., Sanders, A. R., Gelernter, J. und Gejman, P. V. (2003) 'Synonymous mutations in the human dopamine receptor D2 (DRD2) affect mRNA stability and synthesis of the receptor', *Hum Mol Genet*, 12(3), pp. 205-16.
- Duncan, L. E. und Keller, M. C. (2011) 'A critical review of the first 10 years of candidate gene-by-environment interaction research in psychiatry', *Am J Psychiatry*, 168(10), pp. 1041-9.
- Edwards, B. G., Barch, D. M. und Braver, T. S. (2010) 'Improving prefrontal cortex function in schizophrenia through focused training of cognitive control', *Front Hum Neurosci*, 4, pp. 32.
- Falkai, P. und Maier, W. (2006) 'Fortschritte in der neurobiologischen Erforschung der Schizophrenie', *Der Nervenarzt*, 77(3), pp. S65-S76.
- Fanous, A. H. und Kendler, K. S. (2008) 'Genetics of clinical features and subtypes of schizophrenia: a review of the recent literature', *Curr Psychiatry Rep*, 10(2), pp. 164-70.
- Fazel, S., Wolf, A., Palm, C. und Lichtenstein, P. (2014) 'Violent crime, suicide, and premature mortality in patients with schizophrenia and related disorders: a 38-year total population study in Sweden', *Lancet Psychiatry*, 1(1), pp. 44-54.
- Feigenson, K. A., Kusnecov, A. W. und Silverstein, S. M. (2014) 'Inflammation and the two-hit hypothesis of schizophrenia', *Neurosci Biobehav Rev*, 38, pp. 72-93.
- Ferdinand, R. F., Sondeijker, F., van der Ende, J., Selten, J. P., Huizink, A. und Verhulst, F. C. (2005) 'Cannabis use predicts future psychotic symptoms, and vice versa', *Addiction*, 100(5), pp. 612-8.
- Ferraro, L., Beggiato, S., Borroto-Escuela, D. O., Ravani, L., O'Connor, W. T., Tomasini, M. C., Borelli, A. C., Agnati, L. F., Antonelli, T., Tanganelli, S. und Fuxe, K. (2014) 'Neurotensin NTS1-dopamine D2 receptor-receptor interactions in putative receptor heteromers: relevance for Parkinson's disease and schizophrenia', *Curr Protein Pept Sci*, 15(7), pp. 681-90.
- Flint, J. und Munafo, M. (2014) 'Schizophrenia: Genesis of a complex disease', *Nature*, 511(7510), pp. 412-413.
- Folstein, M. F., Folstein, S. E. und McHugh, P. R. (1975) "'Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician', *J Psychiatr Res*, 12(3), pp. 189-98.
- Forbes, N. F., Carrick, L. A., McIntosh, A. M. und Lawrie, S. M. (2009) 'Working memory in schizophrenia: a meta-analysis', *Psychol Med*, 39(6), pp. 889-905.
- Foussias, G. und Remington, G. (2010) 'Negative symptoms in schizophrenia: avolition and Occam's razor', *Schizophr Bull*, 36(2), pp. 359-69.
- Frederick, A. L., Yano, H., Trifilieff, P., Vishwasrao, H. D., Biezonski, D., Meszaros, J., Urizar, E., Sibley, D. R., Kellendonk, C., Sonntag, K. C., Graham, D. L., Colbran, R. J., Stanwood, G. D. und Javitch, J. A. (2015) 'Evidence against dopamine D1/D2 receptor heteromers', *Mol Psychiatry*.
- Freund, T. F., Powell, J. F. und Smith, A. D. (1984) 'Tyrosine hydroxylase-immunoreactive boutons in synaptic contact with identified striatonigral neurons, with particular reference to dendritic spines', *Neuroscience*, 13(4), pp. 1189-215.
- Frey, S. (2014) 'The economic burden of schizophrenia in Germany: a population-based retrospective cohort study using genetic matching', *Eur Psychiatry*, 29(8), pp. 479-89.
- Fukunaga, K. und Shioda, N. (2012) 'Novel dopamine D2 receptor signaling through proteins interacting with the third cytoplasmic loop', *Mol Neurobiol*, 45(1), pp. 144-52.
- Gabriel, S., Ziaugra, L. und Tabbaa, D. (2009) 'SNP genotyping using the Sequenom MassARRAY iPLEX platform', *Curr Protoc Hum Genet*, Chapter 2, pp. Unit 2 12.

- Gabriel, S. B., Schaffner, S. F., Nguyen, H., Moore, J. M., Roy, J., Blumenstiel, B., Higgins, J., DeFelice, M., Lochner, A., Faggart, M., Liu-Cordero, S. N., Rotimi, C., Adeyemo, A., Cooper, R., Ward, R., Lander, E. S., Daly, M. J. und Altshuler, D. (2002) 'The structure of haplotype blocks in the human genome', *Science*, 296(5576), pp. 2225-9.
- Gaebel, W. und Wölwer, W. (2010) *Gesundheitsberichterstattung des Bundes - Schizophrenie. Gesundheitsberichterstattung des Bundes: Robert Koch-Institut*.
- Galderisi, S., Bucci, P., Mucci, A., Kirkpatrick, B., Pini, S., Rossi, A., Vita, A. und Maj, M. (2013) 'Categorical and dimensional approaches to negative symptoms of schizophrenia: focus on long-term stability and functional outcome', *Schizophr Res*, 147(1), pp. 157-62.
- Gaspar, P., Bloch, B. und Le Moine, C. (1995) 'D1 and D2 receptor gene expression in the rat frontal cortex: cellular localization in different classes of efferent neurons', *Eur J Neurosci*, 7(5), pp. 1050-63.
- Gazi, L., Nickolls, S. A. und Strange, P. G. (2003) 'Functional coupling of the human dopamine D(2) receptor with G α (i1), G α (i2), G α (i3) and G α (o) G proteins: evidence for agonist regulation of G protein selectivity', *British Journal of Pharmacology*, 138(5), pp. 775-786.
- Giedd, J. N., Keshavan, M. und Paus, T. (2008) 'Why do many psychiatric disorders emerge during adolescence?', *Nature reviews. Neuroscience*, 9(12), pp. 947-957.
- Giegling, I., Hartmann, A. M., Genius, J., Benninghoff, J., Moller, H. J. und Rujescu, D. (2008) 'Systems biology and complex neurobehavioral traits', *Pharmacopsychiatry*, 41 Suppl 1, pp. S32-6.
- Gilchrist, A. L., Cowan, N. und Naveh-Benjamin, M. (2008) 'Working memory capacity for spoken sentences decreases with adult ageing: recall of fewer but not smaller chunks in older adults', *Memory*, 16(7), pp. 773-87.
- Gingrich, J. A. und Caron, M. G. (1993) 'Recent advances in the molecular biology of dopamine receptors', *Annu Rev Neurosci*, 16, pp. 299-321.
- Giovanoli, S., Engler, H., Engler, A., Richetto, J., Voget, M., Willi, R., Winter, C., Riva, M. A., Mortensen, P. B., Feldon, J., Schedlowski, M. und Meyer, U. (2013) 'Stress in puberty unmasks latent neuropathological consequences of prenatal immune activation in mice', *Science*, 339(6123), pp. 1095-9.
- Giros, B., Sokoloff, P., Martres, M. P., Riou, J. F., Emorine, L. J. und Schwartz, J. C. (1989) 'Alternative splicing directs the expression of two D2 dopamine receptor isoforms', *Nature*, 342(6252), pp. 923-6.
- Glahn, D. C., Knowles, E. E., McKay, D. R., Sprooten, E., Raventos, H., Blangero, J., Gottesman, I. und Almasy, L. (2014) 'Arguments for the sake of endophenotypes: examining common misconceptions about the use of endophenotypes in psychiatric genetics', *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 165b(2), pp. 122-30.
- Glahn, D. C., Therman, S., Manninen, M., Huttunen, M., Kaprio, J., Lonnqvist, J. und Cannon, T. D. (2003) 'Spatial working memory as an endophenotype for schizophrenia', *Biol Psychiatry*, 53(7), pp. 624-6.
- Glatt, S. J., Faraone, S. V., Lasky-Su, J. A., Kanazawa, T., Hwu, H. G. und Tsuang, M. T. (2009) 'Family-based association testing strongly implicates DRD2 as a risk gene for schizophrenia in Han Chinese from Taiwan', *Mol Psychiatry*, 14(9), pp. 885-93.
- Glatt, S. J., Faraone, S. V. und Tsuang, M. T. (2003) 'Meta-analysis identifies an association between the dopamine D2 receptor gene and schizophrenia', *Mol Psychiatry*, 8(11), pp. 911-5.
- Glatt, S. J. und Jonsson, E. G. (2006) 'The Cys allele of the DRD2 Ser311Cys polymorphism has a dominant effect on risk for schizophrenia: evidence from fixed- and random-effects meta-analyses', *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 141b(2), pp. 149-54.
- Goff, D. C., Hill, M. und Freudenreich, O. (2010) 'Strategies for improving treatment adherence in schizophrenia and schizoaffective disorder', *J Clin Psychiatry*, 71 Suppl 2, pp. 20-6.

- Goldman, D., Urbanek, M., Guenther, D., Robin, R. und Long, J. C. (1998) 'A functionally deficient DRD2 variant [Ser311Cys] is not linked to alcoholism and substance abuse', *Alcohol*, 16(1), pp. 47-52.
- Gorelova, N., Seamans, J. K. und Yang, C. R. (2002) 'Mechanisms of dopamine activation of fast-spiking interneurons that exert inhibition in rat prefrontal cortex', *J Neurophysiol*, 88(6), pp. 3150-66.
- Goriely, A., McGrath, J. J., Hultman, C. M., Wilkie, A. O. und Malaspina, D. (2013) '"Selfish spermatogonial selection": a novel mechanism for the association between advanced paternal age and neurodevelopmental disorders', *Am J Psychiatry*, 170(6), pp. 599-608.
- Gorkin, D. U. und Ren, B. (2014) 'Genetics: Closing the distance on obesity culprits', *Nature*, 507(7492), pp. 309-310.
- Gottesman, I. I. und Gould, T. D. (2003) 'The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions', *Am J Psychiatry*, 160(4), pp. 636-45.
- Grandy, D. K., Litt, M., Allen, L., Bunzow, J. R., Marchionni, M., Makam, H., Reed, L., Magenis, R. E. und Civelli, O. (1989) 'The human dopamine D2 receptor gene is located on chromosome 11 at q22-q23 and identifies a TaqI RFLP', *Am J Hum Genet*, 45(5), pp. 778-85.
- Gross, G. und Huber, G. (2008) 'Schizophrenie - Hirnentwicklungsstörung oder degenerativer Hirnprozess?', *Fortschr Neurol Psychiatr*, 76(S 1), pp. S57-S62.
- Grozeva, D., Conrad, D. F., Barnes, C. P., Hurles, M., Owen, M. J., O'Donovan, M. C., Craddock, N. und Kirov, G. (2012) 'Independent estimation of the frequency of rare CNVs in the UK population confirms their role in schizophrenia', *Schizophr Res*, 135(1-3), pp. 1-7.
- Guo, W., Shi, L., Filizola, M., Weinstein, H. und Javitch, J. A. (2005) 'Crosstalk in G protein-coupled receptors: changes at the transmembrane homodimer interface determine activation', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102(48), pp. 17495-500.
- Gupta, S. und Kulhara, P. (2010) 'What is schizophrenia: A neurodevelopmental or neurodegenerative disorder or a combination of both? A critical analysis', *Indian Journal of Psychiatry*, 52(1), pp. 21-27.
- Häfner, H. und Maurer, K. (2006) 'Early detection of schizophrenia: current evidence and future perspectives', *World Psychiatry*, 5(3), pp. 130-138.
- Haijma, S. V., Van Haren, N., Cahn, W., Koolschijn, P. C., Hulshoff Pol, H. E. und Kahn, R. S. (2013) 'Brain volumes in schizophrenia: a meta-analysis in over 18 000 subjects', *Schizophr Bull*, 39(5), pp. 1129-38.
- Haller, C. S., Padmanabhan, J. L., Lizano, P., Torous, J. und Keshavan, M. (2014) 'Recent advances in understanding schizophrenia', *F1000Prime Rep*, 6, pp. 57.
- Hanninen, K., Katila, H., Kampman, O., Anttila, S., Illi, A., Rontu, R., Mattila, K. M., Hietala, J., Hurme, M., Leinonen, E. und Lehtimäki, T. (2006) 'Association between the C957T polymorphism of the dopamine D2 receptor gene and schizophrenia', *Neurosci Lett*, 407(3), pp. 195-8.
- HapMap, I. C. (2003) 'The International HapMap Project', *Nature*, 426(6968), pp. 789-96.
- Härtig, C., Markowitsch, H. J., Neufeld, H., Calabrese, P., Deisinger, K. und Kessler, J. (2000) *Wechsler Memory Scale - Revised Edition, German Edition. Manual*. Bern: Verlag Hans Huber.
- Hasan, A., Malchow, B., Falkai, P. und Schmitt, A. (2014) '[The glutamate hypothesis of schizophrenia]', *Fortschr Neurol Psychiatr*, 82(8), pp. 447-56.
- Hasan, A. W., T. (2013) 'Biologische Behandlung der therapieresistenten Schizophrenie', *Fortschritte der Neurologie · Psychiatrie*.
- Hayes, E., Gavrilidis, E. und Kulkarni, J. (2012) 'The role of oestrogen and other hormones in the pathophysiology and treatment of schizophrenia', *Schizophr Res Treatment*, 2012, pp. 540273.
- Heinrichs, R. W. (2005) 'The primacy of cognition in schizophrenia', *Am Psychol*, 60(3), pp. 229-42.

- Heinrichs, R. W. und Zakzanis, K. K. (1998) 'Neurocognitive deficit in schizophrenia: a quantitative review of the evidence', *Neuropsychology*, 12(3), pp. 426-45.
- Hoe, M., Nakagami, E., Green, M. F. und Brekke, J. S. (2012) 'The causal relationships between neurocognition, social cognition and functional outcome over time in schizophrenia: a latent difference score approach', *Psychol Med*, 42(11), pp. 2287-99.
- Hosak, L., Silhan, P. und Hosakova, J. (2012) 'Genomic copy number variations: A breakthrough in our knowledge on schizophrenia etiology?', *Neuro Endocrinol Lett*, 33(2), pp. 183-90.
- Houthoofd, S. A., Morrens, M. und Sabbe, B. G. (2008) 'Cognitive and psychomotor effects of risperidone in schizophrenia and schizoaffective disorder', *Clin Ther*, 30(9), pp. 1565-89.
- Howes, O. D., Kapur, S., Howes, O. D. und Kapur, S. (2009) 'The Dopamine Hypothesis of Schizophrenia: Version III-025E The Final Common Pathway', *Schizophrenia Bulletin*, 35(3), pp. 549-562.
- Hsiao, E. Y. und Patterson, P. H. (2011) 'Activation of the maternal immune system induces endocrine changes in the placenta via IL-6', *Brain Behav Immun*, 25(4), pp. 604-15.
- Huang, Y. Y., Simpson, E., Kellendonk, C. und Kandel, E. R. (2004) 'Genetic evidence for the bidirectional modulation of synaptic plasticity in the prefrontal cortex by D1 receptors', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101(9), pp. 3236-41.
- Husted, J. A., Ahmed, R., Chow, E. W. C., Brzustowicz, L. M. und Bassett, A. S. (2012) 'Early environmental exposures influence schizophrenia expression even in the presence of strong genetic predisposition', *Schizophrenia research*, 137(1-3), pp. 166-168.
- Iacono, W. G., Malone, S. M., Vaidyanathan, U. und Vrieze, S. I. (2014) 'Genome-wide scans of genetic variants for psychophysiological endophenotypes: a methodological overview', *Psychophysiology*, 51(12), pp. 1207-24.
- Insel, T. R. (2010) 'Rethinking schizophrenia', *Nature*, 468(7321), pp. 187-193.
- Ishii, M. und Kurachi, Y. (2003) 'Physiological actions of regulators of G-protein signaling (RGS) proteins', *Life Sci*, 74(2-3), pp. 163-71.
- Itokawa, M., Arinami, T. und Toru, M. (2010) 'Advanced research on dopamine signaling to develop drugs for the treatment of mental disorders: Ser311Cys polymorphisms of the dopamine D2-receptor gene and schizophrenia', *J Pharmacol Sci*, 114(1), pp. 1-5.
- Jääskeläinen, E., Juola, P., Hirvonen, N., McGrath, J. J., Saha, S., Isohanni, M., Veijola, J. und Miettunen, J. (2013) 'A Systematic Review and Meta-Analysis of Recovery in Schizophrenia', *Schizophrenia Bulletin*, 39(6), pp. 1296-1306.
- Jabben, N., Arts, B., van Os, J. und Krabbendam, L. (2010) 'Neurocognitive functioning as intermediary phenotype and predictor of psychosocial functioning across the psychosis continuum: studies in schizophrenia and bipolar disorder', *J Clin Psychiatry*, 71(6), pp. 764-74.
- Javitt, D. C. (2007) 'Glutamate and schizophrenia: phencyclidine, N-methyl-D-aspartate receptors, and dopamine-glutamate interactions', *Int Rev Neurobiol*, 78, pp. 69-108.
- Jeneson, A. und Squire, L. R. (2012) 'Working memory, long-term memory, and medial temporal lobe function', *Learning & Memory*, 19(1), pp. 15-25.
- Jobe, T. H. und Harrow, M. (2005) 'Long-term outcome of patients with schizophrenia: a review', *Can J Psychiatry*, 50(14), pp. 892-900.
- Jonas, K. G. und Markon, K. E. (2014) 'A meta-analytic evaluation of the endophenotype hypothesis: effects of measurement paradigm in the psychiatric genetics of impulsivity', *J Abnorm Psychol*, 123(3), pp. 660-75.
- Jonsson, E. G., Sillen, A., Vares, M., Ekholm, B., Terenius, L. und Sedvall, G. C. (2003) 'Dopamine D2 receptor gene Ser311Cys variant and schizophrenia: association study and meta-analysis', *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 119b(1), pp. 28-34.

- Kaalund, S. S., Newburn, E. N., Ye, T., Tao, R., Li, C., Deep-Soboslay, A., Herman, M. M., Hyde, T. M., Weinberger, D. R., Lipska, B. K. und Kleinman, J. E. (2014) 'Contrasting changes in DRD1 and DRD2 splice variant expression in schizophrenia and affective disorders, and associations with SNPs in postmortem brain', *Mol Psychiatry*, 19(12), pp. 1258-66.
- Kahn, R. S. und Keefe, R. S. (2013) 'Schizophrenia is a cognitive illness: time for a change in focus', *JAMA Psychiatry*, 70(10), pp. 1107-12.
- Kanwisher, N. (2010) 'Functional specificity in the human brain: A window into the functional architecture of the mind', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(25), pp. 11163-11170.
- Karl, T. und Arnold, J. C. (2014) 'Schizophrenia: a consequence of gene-environment interactions?', *Front Behav Neurosci*, 8, pp. 435.
- Kegeles, L. S., Abi-Dargham, A., Zea-Ponce, Y., Rodenhiser-Hill, J., Mann, J. J., Van Heertum, R. L., Cooper, T. B., Carlsson, A. und Laruelle, M. (2000) 'Modulation of amphetamine-induced striatal dopamine release by ketamine in humans: implications for schizophrenia', *Biol Psychiatry*, 48(7), pp. 627-40.
- Keller, M. C., Medland, S. E. und Duncan, L. E. (2010) 'Are extended twin family designs worth the trouble? A comparison of the bias, precision, and accuracy of parameters estimated in four twin family models', *Behav Genet*, 40(3), pp. 377-93.
- Kelly, B. D., O'Callaghan, E., Waddington, J. L., Feeney, L., Browne, S., Scully, P. J., Clarke, M., Quinn, J. F., McTigue, O., Morgan, M. G., Kinsella, A. und Larkin, C. (2010) 'Schizophrenia and the city: A review of literature and prospective study of psychosis and urbanicity in Ireland', *Schizophr Res*, 116(1), pp. 75-89.
- Keri, S. und Janka, Z. (2004) 'Critical evaluation of cognitive dysfunctions as endophenotypes of schizophrenia', *Acta Psychiatr Scand*, 110(2), pp. 83-91.
- Keshavan, M. S., Anderson, S. und Pettegrew, J. W. (1994) 'Is schizophrenia due to excessive synaptic pruning in the prefrontal cortex? The Feinberg hypothesis revisited', *J Psychiatr Res*, 28(3), pp. 239-65.
- Keshavan, M. S., Clementz, B. A., Pearson, G. D., Sweeney, J. A. und Tamminga, C. A. (2013) 'Reimagining psychoses: an agnostic approach to diagnosis', *Schizophr Res*, 146(1-3), pp. 10-6.
- Keshavan, M. S., Nasrallah, H. A. und Tandon, R. (2011) 'Schizophrenia, "Just the Facts" 6. Moving ahead with the schizophrenia concept: from the elephant to the mouse', *Schizophr Res*, 127(1-3), pp. 3-13.
- Kessler, J., Markowitsch, H. J. und Denzler, P. (2000) *Mini-Mental-Status-Test (MMST)*. Deutsche Adaptation edn. Göttingen: Beltz Test GMBH.
- Khandaker, G. M., Zimbron, J., Lewis, G. und Jones, P. B. (2013) 'Prenatal maternal infection, neurodevelopment and adult schizophrenia: a systematic review of population-based studies', *Psychological Medicine*, 43(02), pp. 239-257.
- Kidd, K. K., Morar, B., Castiglione, C. M., Zhao, H., Pakstis, A. J., Speed, W. C., Bonne-Tamir, B., Lu, R. B., Goldman, D., Lee, C., Nam, Y. S., Grandy, D. K., Jenkins, T. und Kidd, J. R. (1998) 'A global survey of haplotype frequencies and linkage disequilibrium at the DRD2 locus', *Hum Genet*, 103(2), pp. 211-27.
- King, M. V., Seeman, P., Marsden, C. A. und Fone, K. C. (2009) 'Increased dopamine D2High receptors in rats reared in social isolation', *Synapse*, 63(6), pp. 476-83.
- Kirkbride, J. B., Jones, P. B., Ullrich, S. und Coid, J. W. (2014) 'Social deprivation, inequality, and the neighborhood-level incidence of psychotic syndromes in East London', *Schizophr Bull*, 40(1), pp. 169-80.
- Kirov, G., Pocklington, A. J., Holmans, P., Ivanov, D., Ikeda, M., Ruderfer, D., Moran, J., Chambert, K., Toncheva, D., Georgieva, L., Grozeva, D., Fjodorova, M., Wollerton, R., Rees, E., Nikolov, I., van de Lagemaat, L. N.,

- Bayes, A., Fernandez, E., Olason, P. I., Bottcher, Y., Komiyama, N. H., Collins, M. O., Choudhary, J., Stefansson, K., Stefansson, H., Grant, S. G., Purcell, S., Sklar, P., O'Donovan, M. C. und Owen, M. J. (2012) 'De novo CNV analysis implicates specific abnormalities of postsynaptic signalling complexes in the pathogenesis of schizophrenia', *Mol Psychiatry*, 17(2), pp. 142-53.
- Kirov, G., Zaharieva, I., Georgieva, L., Moskvina, V., Nikolov, I., Cichon, S., Hillmer, A., Toncheva, D., Owen, M. J. und O'Donovan, M. C. (2009) 'A genome-wide association study in 574 schizophrenia trios using DNA pooling', *Mol Psychiatry*, 14(8), pp. 796-803.
- Klosterkötter, J., Schultze-Lutter, F. und Ruhrmann, S. (2008) 'Kraepelin and psychotic prodromal conditions', *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 258 Suppl 2, pp. 74-84.
- Knowles, E. E., Mathias, S. R., McKay, D. R., Sprooten, E., Blangero, J., Almasy, L. und Glahn, D. C. (2014) 'Genome-Wide Analyses of Working-Memory Ability: A Review', *Curr Behav Neurosci Rep*, 1(4), pp. 224-233.
- Kong, A., Frigge, M. L., Masson, G., Besenbacher, S., Sulem, P., Magnusson, G., Gudjonsson, S. A., Sigurdsson, A., Jonasdottir, A., Jonasdottir, A., Wong, W. S., Sigurdsson, G., Walters, G. B., Steinberg, S., Helgason, H., Thorleifsson, G., Gudbjartsson, D. F., Helgason, A., Magnusson, O. T., Thorsteinsdottir, U. und Stefansson, K. (2012) 'Rate of de novo mutations and the importance of father's age to disease risk', *Nature*, 488(7412), pp. 471-5.
- Konnopka, A., Klingberg, S., Wittorf, A. und König, H. H. (2009) '[The cost of schizophrenia in Germany: a systematic review of the literature]', *Psychiatr Praxis*, 36(5), pp. 211-8.
- Koob, G. F. und Volkow, N. D. (2010) 'Neurocircuitry of addiction', *Neuropsychopharmacology*, 35(1), pp. 217-38.
- Koren, D., Viksman, P., Giuliano, A. J. und Seidman, L. J. (2013) 'The nature and evolution of insight in schizophrenia: a multi-informant longitudinal study of first-episode versus chronic patients', *Schizophr Res*, 151(1-3), pp. 245-51.
- Kyriakopoulos, M. und Frangou, S. (2007) 'Pathophysiology of early onset schizophrenia', *Int Rev Psychiatry*, 19(4), pp. 315-24.
- Lacro, J. P., Dunn, L. B., Dolder, C. R., Leckband, S. G. und Jeste, D. V. (2002) 'Prevalence of and risk factors for medication nonadherence in patients with schizophrenia: a comprehensive review of recent literature', *The Journal of clinical psychiatry*, 63(10), pp. 892-909.
- Lander, E. S. und Linton, L. M. und Birren, B. und Nusbaum, C. und Zody, M. C. und Baldwin, J. und Devon, K. und Dewar, K. und Doyle, M. und FitzHugh, W. und Funke, R. und Gage, D. und Harris, K. und Heaford, A. und Howland, J. und Kann, L. und Lehoczky, J. und LeVine, R. und McEwan, P. und McKernan, K. und Meldrim, J. und Mesirov, J. P. und Miranda, C. und Morris, W. und Naylor, J. und Raymond, C. und Rosetti, M. und Santos, R. und Sheridan, A. und Sougnez, C. und Stange-Thomann, N. und Stojanovic, N. und Subramanian, A. und Wyman, D. und Rogers, J. und Sulston, J. und Ainscough, R. und Beck, S. und Bentley, D. und Burton, J. und Clee, C. und Carter, N. und Coulson, A. und Deadman, R. und Deloukas, P. und Dunham, A. und Dunham, I. und Durbin, R. und French, L. und Grafham, D. und Gregory, S. und Hubbard, T. und Humphray, S. und Hunt, A. und Jones, M. und Lloyd, C. und McMurray, A. und Matthews, L. und Mercer, S. und Milne, S. und Mullikin, J. C. und Mungall, A. und Plumb, R. und Ross, M. und Shownkeen, R. und Sims, S. und Waterston, R. H. und Wilson, R. K. und Hillier, L. W. und McPherson, J. D. und Marra, M. A. und Mardis, E. R. und Fulton, L. A. und Chinwalla, A. T. und Pepin, K. H. und Gish, W. R. und Chissole, S. L. und Wendl, M. C. und Delehaunty, K. D. und Miner, T. L. und Delehaunty, A. und Kramer, J. B. und Cook, L. L. und Fulton, R. S. und Johnson, D. L. und Minx, P. J. und Clifton, S. W. und Hawkins, T. und Branscomb, E. und Predki, P. und Richardson, P. und Wenning, S. und Slezak, T. und Doggett, N. und Cheng, J. F. und Olsen, A.

- und Lucas, S. und Elkin, C. und Uberbacher, E. und Frazier, M. und Gibbs, R. A. und Muzny, D. M. und Scherer, S. E. und Bouck, J. B. und Sodergren, E. J. und Worley, K. C. und Rives, C. M. und Gorrell, J. H. und Metzker, M. L. und Naylor, S. L. und Kucherlapati, R. S. und Nelson, D. L. und Weinstock, G. M. und Sakaki, Y. und Fujiyama, A. und Hattori, M. und Yada, T. und Toyoda, A. und Itoh, T. und Kawagoe, C. und Watanabe, H. und Totoki, Y. und Taylor, T. und Weissenbach, J. und Heilig, R. und Saurin, W. und Artiguenave, F. und Brottier, P. und Bruls, T. und Pelletier, E. und Robert, C. und Wincker, P. und Smith, D. R. und Doucette-Stamm, L. und Rubenfield, M. und Weinstock, K. und Lee, H. M. und Dubois, J. und Rosenthal, A. und Platzer, M. und Nyakatura, G. und Taudien, S. und Rump, A. und Yang, H. und Yu, J. und Wang, J. und Huang, G. und Gu, J. und Hood, L. und Rowen, L. und Madan, A. und Qin, S. und Davis, R. W. und Federspiel, N. A. und Abola, A. P. und Proctor, M. J. und Myers, R. M. und Schmutz, J. und Dickson, M. und Grimwood, J. und Cox, D. R. und Olson, M. V. und Kaul, R. und Raymond, C. und Shimizu, N. und Kawasaki, K. und Minoshima, S. und Evans, G. A. und Athanasiou, M. und Schultz, R. und Roe, B. A. und Chen, F. und Pan, H. und Ramser, J. und Lehrach, H. und Reinhardt, R. und McCombie, W. R. und de la Bastide, M. und Dedhia, N. und Blocker, H. und Hornischer, K. und Nordsiek, G. und Agarwala, R. und Aravind, L. und Bailey, J. A. und Bateman, A. und Batzoglu, S. und Birney, E. und Bork, P. und Brown, D. G. und Burge, C. B. und Cerutti, L. und Chen, H. C. und Church, D. und Clamp, M. und Copley, R. R. und Doerks, T. und Eddy, S. R. und Eichler, E. E. und Furey, T. S. und Galagan, J. und Gilbert, J. G. und Harmon, C. und Hayashizaki, Y. und Haussler, D. und Hermjakob, H. und Hokamp, K. und Jang, W. und Johnson, L. S. und Jones, T. A. und Kasif, S. und Kasprzyk, A. und Kennedy, S. und Kent, W. J. und Kitts, P. und Koonin, E. V. und Korf, I. und Kulp, D. und Lancet, D. und Lowe, T. M. und McLysaght, A. und Mikkelsen, T. und Moran, J. V. und Mulder, N. und Pollara, V. J. und Ponting, C. P. und Schuler, G. und Schultz, J. und Slater, G. und Smit, A. F. und Stupka, E. und Szustakowski, J. und Thierry-Mieg, D. und Thierry-Mieg, J. und Wagner, L. und Wallis, J. und Wheeler, R. und Williams, A. und Wolf, Y. I. und Wolfe, K. H. und Yang, S. P. und Yeh, R. F. und Collins, F. und Guyer, M. S. und Peterson, J. und Felsenfeld, A. und Wetterstrand, K. A. und Patrinos, A. und Morgan, M. J. und de Jong, P. und Catanese, J. J. und Osoegawa, K. und Shizuya, H. und Choi, S. und Chen, Y. J. (2001) 'Initial sequencing and analysis of the human genome', *Nature*, 409(6822), pp. 860-921.
- Lang, F. U., Kusters, M., Lang, S., Becker, T. und Jager, M. (2013) 'Psychopathological long-term outcome of schizophrenia -- a review', *Acta Psychiatr Scand*, 127(3), pp. 173-82.
- Lanier, S. M. (2004) 'AGS proteins, GPR motifs and the signals processed by heterotrimeric G proteins', *Biol Cell*, 96(5), pp. 369-72.
- Laruelle, M. (2014) 'Schizophrenia: from dopaminergic to glutamatergic interventions', *Current Opinion in Pharmacology*, 14(0), pp. 97-102.
- Lau, C. I., Wang, H. C., Hsu, J. L. und Liu, M. E. (2013) 'Does the dopamine hypothesis explain schizophrenia?', *Rev Neurosci*, 24(4), pp. 389-400.
- Laursen, T. M., Nordentoft, M. und Mortensen, P. B. (2014) 'Excess early mortality in schizophrenia', *Annu Rev Clin Psychol*, 10, pp. 425-48.
- Lawford, B. R., Young, R. M., Swagell, C. D., Barnes, M., Burton, S. C., Ward, W. K., Heslop, K. R., Shadforth, S., van Daal, A. und Morris, C. P. (2005) 'The C/C genotype of the C957T polymorphism of the dopamine D2 receptor is associated with schizophrenia', *Schizophr Res*, 73(1), pp. 31-7.
- Lederbogen, F., Haddad, L. und Meyer-Lindenberg, A. (2013) 'Urban social stress-risk factor for mental disorders. The case of schizophrenia', *Environ Pollut*, 183, pp. 2-6.
- Lederbogen, F., Kirsch, P., Haddad, L., Streit, F., Tost, H., Schuch, P., Wust, S., Pruessner, J. C., Rietschel, M., Deuschle, M. und Meyer-Lindenberg, A.

- (2011) 'City living and urban upbringing affect neural social stress processing in humans', *Nature*, 474(7352), pp. 498-501.
- Lee, S. H., DeCandia, T. R., Ripke, S., Yang, J., Sullivan, P. F., Goddard, M. E., Keller, M. C., Visscher, P. M. und Wray, N. R. (2012) 'Estimating the proportion of variation in susceptibility to schizophrenia captured by common SNPs', *Nat Genet*, 44(3), pp. 247-50.
- Lee, S. P., O'Dowd, B. F., Ng, G. Y., Varghese, G., Akil, H., Mansour, A., Nguyen, T. und George, S. R. (2000) 'Inhibition of cell surface expression by mutant receptors demonstrates that D2 dopamine receptors exist as oligomers in the cell', *Mol Pharmacol*, 58(1), pp. 120-8.
- Lees-Haley, P. R., Smith, H. H., Williams, C. W. und Dunn, J. T. (1996) 'Forensic neuropsychological test usage: An empirical survey', *Archives of Clinical Neuropsychology*, 11(1), pp. 45-51.
- Lesh, T. A., Niendam, T. A., Minzenberg, M. J. und Carter, C. S. (2011) 'Cognitive control deficits in schizophrenia: mechanisms and meaning', *Neuropsychopharmacology*, 36(1), pp. 316-38.
- Levine, M. S., Li, Z., Cepeda, C., Cromwell, H. C. und Altemus, K. L. (1996) 'Neuromodulatory actions of dopamine on synaptically-evoked neostriatal responses in slices', *Synapse*, 24(1), pp. 65-78.
- Levinson, D. F. (2005) 'Meta-analysis in psychiatric genetics', *Curr Psychiatry Rep*, 7(2), pp. 143-51.
- Lewis, D. A. (2009) 'Neuroplasticity of excitatory and inhibitory cortical circuits in schizophrenia', *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 11(3), pp. 269-280.
- Lichtenstein, P., Yip, B. H., Bjork, C., Pawitan, Y., Cannon, T. D., Sullivan, P. F. und Hultman, C. M. (2009) 'Common genetic determinants of schizophrenia and bipolar disorder in Swedish families: a population-based study', *Lancet*, 373(9659), pp. 234-9.
- Light, G., Greenwood, T. A., Swerdlow, N. R., Calkins, M. E., Freedman, R., Green, M. F., Gur, R. E., Gur, R. C., Lazzaroni, L. C., Nuechterlein, K. H., Olincy, A., Radant, A. D., Seidman, L. J., Siever, L. J., Silverman, J. M., Sprock, J., Stone, W. S., Sugar, C. A., Tsuang, D. W., Tsuang, M. T., Turetsky, B. I. und Braff, D. L. (2014) 'Comparison of the heritability of schizophrenia and endophenotypes in the COGS-1 family study', *Schizophr Bull*, 40(6), pp. 1404-11.
- Lin, C. H., Huang, C. L., Chang, Y. C., Chen, P. W., Lin, C. Y., Tsai, G. E. und Lane, H. Y. (2013) 'Clinical symptoms, mainly negative symptoms, mediate the influence of neurocognition and social cognition on functional outcome of schizophrenia', *Schizophr Res*, 146(1-3), pp. 231-7.
- Liu, L., Fan, D., Ding, N., Hu, Y., Cai, G., Wang, L., Xin, L., Xia, Q., Li, X., Xu, S., Xu, J., Yang, X., Zou, Y. und Pan, F. (2014) 'The relationship between DRD2 gene polymorphisms (C957T and C939T) and schizophrenia: A meta-analysis', *Neurosci Lett*, 583, pp. 43-8.
- Liu, L., Yuan, G., Cheng, Z., Zhang, G., Liu, X. und Zhang, H. (2013) 'Identification of the mRNA expression status of the dopamine D2 receptor and dopamine transporter in peripheral blood lymphocytes of schizophrenia patients', *PLoS One*, 8(9), pp. e75259.
- Liu, Z. W., Liu, J. L., An, Y., Zhang, L. und Wang, Y. M. (2012) 'Association between Ser311Cys polymorphism in the dopamine D2 receptor gene and schizophrenia risk: a meta-analysis in Asian populations', *Genet Mol Res*, 11(1), pp. 261-70.
- Luo, X., Huang, L., Han, L., Luo, Z., Hu, F., Tieu, R. und Gan, L. (2014) 'Systematic prioritization and integrative analysis of copy number variations in schizophrenia reveal key schizophrenia susceptibility genes', *Schizophr Bull*, 40(6), pp. 1285-99.
- Marwaha, S., Johnson, S., Bebbington, P., Stafford, M., Angermeyer, M. C., Brugha, T., Azorin, J. M., Kilian, R., Hansen, K. und Toumi, M. (2007) 'Rates and correlates of employment in people with schizophrenia in the UK, France and Germany', *Br J Psychiatry*, 191, pp. 30-7.

- Matsuda, Y., Marzo, A. und Otani, S. (2006) 'The presence of background dopamine signal converts long-term synaptic depression to potentiation in rat prefrontal cortex', *J Neurosci*, 26(18), pp. 4803-10.
- McClelland, J. L., McNaughton, B. L. und O'Reilly, R. C. (1995) 'Why there are complementary learning systems in the hippocampus and neocortex: insights from the successes and failures of connectionist models of learning and memory', *Psychol Rev*, 102(3), pp. 419-57.
- McGrath, J., Saha, S., Chant, D. und Welham, J. (2008) 'Schizophrenia: a concise overview of incidence, prevalence, and mortality', *Epidemiol Rev*, 30, pp. 67-76.
- McGrath, J. J., Mortensen, P. B., Visscher, P. M. und Wray, N. R. (2013) 'Where GWAS and epidemiology meet: opportunities for the simultaneous study of genetic and environmental risk factors in schizophrenia', *Schizophr Bull*, 39(5), pp. 955-9.
- McGrath, J. J., Petersen, L., Agerbo, E., Mors, O., Mortensen, P. und Pedersen, C. (2014) 'A comprehensive assessment of parental age and psychiatric disorders', *JAMA Psychiatry*, 71(3), pp. 301-309.
- McLoughlin, B. C., Pushpa-Rajah, J. A., Gillies, D., Rathbone, J., Variend, H., Kalakouti, E. und Kyprianou, K. (2014) 'Cannabis and schizophrenia', *Cochrane Database Syst Rev*, 10, pp. Cd004837.
- Mehta, M. A. und Riedel, W. J. (2006) 'Dopaminergic enhancement of cognitive function', *Curr Pharm Des*, 12(20), pp. 2487-500.
- Meltzer, H. Y. (1989) 'Clinical studies on the mechanism of action of clozapine: the dopamine-serotonin hypothesis of schizophrenia', *Psychopharmacology (Berl)*, 99 Suppl, pp. S18-27.
- Meshulam-Gately, R. I., Giuliano, A. J., Goff, K. P., Faraone, S. V. und Seidman, L. J. (2009) 'Neurocognition in first-episode schizophrenia: a meta-analytic review', *Neuropsychology*, 23(3), pp. 315-36.
- Meyer, U. und Feldon, J. (2009) 'Prenatal exposure to infection: a primary mechanism for abnormal dopaminergic development in schizophrenia', *Psychopharmacology (Berl)*, 206(4), pp. 587-602.
- Mi, H., Thomas, P. D., Ring, H. Z., Jiang, R., Sangkuhl, K., Klein, T. E. und Altman, R. B. (2011) 'PharmGKB summary: dopamine receptor D2', *Pharmacogenetics and Genomics*, 21(6), pp. 350-356.
- Miller, D. J., Duka, T., Stimpson, C. D., Schapiro, S. J., Baze, W. B., McArthur, M. J., Fobbs, A. J., Sousa, A. M., Sestan, N., Wildman, D. E., Lipovich, L., Kuzawa, C. W., Hof, P. R. und Sherwood, C. C. (2012) 'Prolonged myelination in human neocortical evolution', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109(41), pp. 16480-5.
- Misdráhi, D., Petit, M., Blanc, O., Bayle, F. und Llorca, P. M. (2012) 'The influence of therapeutic alliance and insight on medication adherence in schizophrenia', *Nord J Psychiatry*, 66(1), pp. 49-54.
- Missale, C., Nash, S. R., Robinson, S. W., Jaber, M. und Caron, M. G. (1998) 'Dopamine receptors: from structure to function', *Physiol Rev*, 78(1), pp. 189-225.
- Moghaddam, B. und Jackson, M. E. (2003) 'Glutamatergic animal models of schizophrenia', *Ann N Y Acad Sci*, 1003, pp. 131-7.
- Monakhov, M., Golimbet, V., Abramova, L., Kaleda, V. und Karpov, V. (2008) 'Association study of three polymorphisms in the dopamine D2 receptor gene and schizophrenia in the Russian population', *Schizophr Res*, 100(1-3), pp. 302-7.
- Moncrieff, J. und Leo, J. (2010) 'A systematic review of the effects of antipsychotic drugs on brain volume', *Psychol Med*, 40(9), pp. 1409-22.
- Moore, P. M. und Baker, G. A. (1997) 'Psychometric properties and factor structure of the Wechsler Memory Scale-Revised in a sample of persons with intractable epilepsy', *J Clin Exp Neuropsychol*, 19(6), pp. 897-905.
- Morrison, P. D., Zois, V., McKeown, D. A., Lee, T. D., Holt, D. W., Powell, J. F., Kapur, S. und Murray, R. M. (2009) 'The acute effects of synthetic

- intravenous Delta9-tetrahydrocannabinol on psychosis, mood and cognitive functioning', *Psychol Med*, 39(10), pp. 1607-16.
- Munro, C. A., Winicki, J. M., Schretlen, D. J., Gower, E. W., Turano, K. A., Munoz, B., Keay, L., Bandeen-Roche, K. und West, S. K. (2012) 'Sex differences in cognition in healthy elderly individuals', *Neuropsychol Dev Cogn B Aging Neuropsychol Cogn*, 19(6), pp. 759-68.
- Murray, R. M., Lappin, J. und Di Forti, M. (2008) 'Schizophrenia: from developmental deviance to dopamine dysregulation', *Eur Neuropsychopharmacol*, 18 Suppl 3, pp. S129-34.
- Naveh-Benjamin, M., Cowan, N., Kilb, A. und Chen, Z. (2007) 'Age-related differences in immediate serial recall: dissociating chunk formation and capacity', *Mem Cognit*, 35(4), pp. 724-37.
- Need, A. C., Ge, D., Weale, M. E., Maia, J., Feng, S., Heinzen, E. L., Shianna, K. V., Yoon, W., Kasperaviciute, D., Gennarelli, M., Strittmatter, W. J., Bonvicini, C., Rossi, G., Jayathilake, K., Cola, P. A., McEvoy, J. P., Keefe, R. S., Fisher, E. M., St Jean, P. L., Giegling, I., Hartmann, A. M., Moller, H. J., Ruppert, A., Fraser, G., Crombie, C., Middleton, L. T., St Clair, D., Roses, A. D., Muglia, P., Francks, C., Rujescu, D., Meltzer, H. Y. und Goldstein, D. B. (2009a) 'A genome-wide investigation of SNPs and CNVs in schizophrenia', *PLoS Genet*, 5(2), pp. e1000373.
- Need, A. C., Ge, D., Weale, M. E., Maia, J., Feng, S., Heinzen, E. L., Shianna, K. V., Yoon, W., Kasperaviciute, D., Gennarelli, M., Strittmatter, W. J., Bonvicini, C., Rossi, G., Jayathilake, K., Cola, P. A., McEvoy, J. P., Keefe, R. S. E., Fisher, E. M. C., St. Jean, P. L., Giegling, I., Hartmann, A. M., Möller, H.-J., Ruppert, A., Fraser, G., Crombie, C., Middleton, L. T., St. Clair, D., Roses, A. D., Muglia, P., Francks, C., Rujescu, D., Meltzer, H. Y. und Goldstein, D. B. (2009b) 'A Genome-Wide Investigation of SNPs and CNVs in Schizophrenia', *PLoS Genetics*, 5(2), pp. e1000373.
- Nehra, R., Grover, S., Sharma, S., Sharma, A. und Sarkar, S. (2014) 'Neuro-cognitive functioning in unaffected siblings of patients with bipolar disorder: Comparison with bipolar patients and healthy controls', *Indian Journal of Psychiatry*, 56(3), pp. 283-288.
- Neve, K. A. (2005) 'Dopamine Receptors', in Werner J. Schmidt, M.E.A.R. (ed.) *Dopamine and Glutamate in Psychiatric Disorders*: Humana Press, pp. 3-43.
- Nickolls, S. A. und Strange, P. G. (2003) 'Interaction of the D2short dopamine receptor with G proteins: analysis of receptor/G protein selectivity', *Biochem Pharmacol*, 65(7), pp. 1139-50.
- Niwa, M., Kamiya, A., Murai, R., Kubo, K., Gruber, A. J., Tomita, K., Lu, L., Tomisato, S., Jaaro-Peled, H., Seshadri, S., Hiyama, H., Huang, B., Kohda, K., Noda, Y., O'Donnell, P., Nakajima, K., Sawa, A. und Nabeshima, T. (2010) 'Knockdown of DISC1 by in utero gene transfer disturbs postnatal dopaminergic maturation in the frontal cortex and leads to adult behavioral deficits', *Neuron*, 65(4), pp. 480-9.
- Noble, E. P. (2003) 'D2 dopamine receptor gene in psychiatric and neurologic disorders and its phenotypes', *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 116b(1), pp. 103-25.
- O'Donovan, M. C., Craddock, N., Norton, N., Williams, H., Peirce, T., Moskvina, V., Nikolov, I., Hamshere, M., Carroll, L., Georgieva, L., Dwyer, S., Holmans, P., Marchini, J. L., Spencer, C. C., Howie, B., Leung, H. T., Hartmann, A. M., Moller, H. J., Morris, D. W., Shi, Y., Feng, G., Hoffmann, P., Propping, P., Vasilescu, C., Maier, W., Rietschel, M., Zammit, S., Schumacher, J., Quinn, E. M., Schulze, T. G., Williams, N. M., Giegling, I., Iwata, N., Ikeda, M., Darvasi, A., Shifman, S., He, L., Duan, J., Sanders, A. R., Levinson, D. F., Gejman, P. V., Cichon, S., Nothen, M. M., Gill, M., Corvin, A., Rujescu, D., Kirov, G., Owen, M. J., Buccola, N. G., Mowry, B. J., Freedman, R., Amin, F., Black, D. W., Silverman, J. M., Byerley, W. F. und Cloninger, C. R. (2008) 'Identification of loci associated with

- schizophrenia by genome-wide association and follow-up', *Nat Genet*, 40(9), pp. 1053-5.
- Ochoa, S., Usall, J., Cobo, J., Labad, X. und Kulkarni, J. (2012) 'Gender differences in schizophrenia and first-episode psychosis: a comprehensive literature review', *Schizophr Res Treatment*, 2012, pp. 916198.
- Oeth, P., Beaulieu, M., OPark, C., Kosman, D., del Mistro, G., van den Boom, D. und Jurinke, C. (2005) *iPLEX Assay: Increased Plexing Efficiency and Flexibility for MassARRAY System Through Single Base Primer Extensions with Mass-Modified Terminators: Sequenom Application Note*. Sequenom.
- Olincy, A., Braff, D. L., Adler, L. E., Cadenhead, K. S., Calkins, M. E., Dobie, D. J., Green, M. F., Greenwood, T. A., Gur, R. E., Gur, R. C., Light, G. A., Mintz, J., Nuechterlein, K. H., Radant, A. D., Schork, N. J., Seidman, L. J., Siever, L. J., Silverman, J. M., Stone, W. S., Swerdlow, N. R., Tsuang, D. W., Tsuang, M. T., Turetsky, B. I., Wagner, B. D. und Freedman, R. (2010) 'Inhibition of the P50 cerebral evoked response to repeated auditory stimuli: results from the Consortium on Genetics of Schizophrenia', *Schizophr Res*, 119(1-3), pp. 175-82.
- Overbeek, R., Begley, T., Butler, R. M., Choudhuri, J. V., Chuang, H. Y., Cohoon, M., de Crecy-Lagard, V., Diaz, N., Disz, T., Edwards, R., Fonstein, M., Frank, E. D., Gerdes, S., Glass, E. M., Goesmann, A., Hanson, A., Iwata-Reuyl, D., Jensen, R., Jamshidi, N., Krause, L., Kubal, M., Larsen, N., Linke, B., McHardy, A. C., Meyer, F., Neuweiger, H., Olsen, G., Olson, R., Osterman, A., Portnoy, V., Pusch, G. D., Rodionov, D. A., Ruckert, C., Steiner, J., Stevens, R., Thiele, I., Vassieva, O., Ye, Y., Zagnitko, O. und Vonstein, V. (2005) 'The subsystems approach to genome annotation and its use in the project to annotate 1000 genomes', *Nucleic Acids Res*, 33(17), pp. 5691-702.
- Palmer, B. A., Pankratz, V. S. und Bostwick, J. M. (2005) 'The lifetime risk of suicide in schizophrenia: a reexamination', *Arch Gen Psychiatry*, 62(3), pp. 247-53.
- Parnas, J., Raballo, A., Handest, P., Jansson, L., Vollmer-Larsen, A. und Saebye, D. (2011) 'Self-experience in the early phases of schizophrenia: 5-year follow-up of the Copenhagen Prodromal Study', *World Psychiatry*, 10(3), pp. 200-4.
- Paulzen, D. M. S., F. (2014) 'Schizophrenie und andere psychotische Störungen im DSM-5. Zusammenfassung der Änderungen gegenüber DSM-IV.', *Der Nervenarzt*, 5, pp. 533-542.
- Paz, R. D., Tardito, S., Atzori, M. und Tseng, K. Y. (2008) 'Glutamatergic dysfunction in schizophrenia: from basic neuroscience to clinical psychopharmacology', *Eur Neuropsychopharmacol*, 18(11), pp. 773-86.
- Perala, J., Suvisaari, J., Saarni, S. I., Kuoppasalmi, K., Isometsa, E., Pirkola, S., Partonen, T., Tuulio-Henriksson, A., Hintikka, J., Kieseppa, T., Harkanen, T., Koskinen, S. und Lonnqvist, J. (2007) 'Lifetime prevalence of psychotic and bipolar I disorders in a general population', *Arch Gen Psychiatry*, 64(1), pp. 19-28.
- Petanjek, Z., Judaš, M., Šimić, G., Rašin, M. R., Uylings, H. B. M., Rakic, P. und Kostović, I. (2011) 'Extraordinary neoteny of synaptic spines in the human prefrontal cortex', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(32), pp. 13281-13286.
- Petersen, L. und Sorensen, T. I. (2011) 'Studies based on the Danish Adoption Register: schizophrenia, BMI, smoking, and mortality in perspective', *Scand J Public Health*, 39(7 Suppl), pp. 191-5.
- Pinkham, A. E. (2014) 'Social cognition in schizophrenia', *J Clin Psychiatry*, 75 Suppl 2, pp. 14-9.
- Powell, S. B., Sejnowski, T. J. und Behrens, M. M. (2012) 'Behavioral and neurochemical consequences of cortical oxidative stress on parvalbumin-interneuron maturation in rodent models of schizophrenia', *Neuropharmacology*, 62(3), pp. 1322-31.

- Purcell, S. M., Moran, J. L., Fromer, M., Ruderfer, D., Solovieff, N., Roussos, P., O'Dushlaine, C., Chambert, K., Bergen, S. E., Kähler, A., Duncan, L., Stahl, E., Genovese, G., Fernández, E., Collins, M. O., Komiyama, N. H., Choudhary, J. S., Magnusson, P. K. E., Banks, E., Shakir, K., Garimella, K., Fennell, T., de Pisto, M., Grant, S. G. N., Haggarty, S., Gabriel, S., Scolnick, E. M., Lander, E. S., Hultman, C., Sullivan, P. F., McCarroll, S. A. und Sklar, P. (2014) 'A polygenic burden of rare disruptive mutations in schizophrenia', *Nature*, 506(7487), pp. 185-190.
- Purcell, S. M., Wray, N. R., Stone, J. L., Visscher, P. M., O'Donovan, M. C., Sullivan, P. F. und Sklar, P. (2009) 'Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder', *Nature*, 460(7256), pp. 748-52.
- Qiagen (2005) *QIAamp DNA Blood Midi/Maxi Handbook. 2nd Edition*. Hilden, Germany: Qiagen.
- Quee, P. J., Alizadeh, B. Z., Aleman, A. und van den Heuvel, E. R. (2014) 'Cognitive subtypes in non-affected siblings of schizophrenia patients: characteristics and profile congruency with affected family members', *Psychol Med*, 44(2), pp. 395-405.
- Radant, A. D., Dobie, D. J., Calkins, M. E., Olincy, A., Braff, D. L., Cadenhead, K. S., Freedman, R., Green, M. F., Greenwood, T. A., Gur, R. E., Gur, R. C., Light, G. A., Meichle, S. P., Millard, S. P., Mintz, J., Nuechterlein, K. H., Schork, N. J., Seidman, L. J., Siever, L. J., Silverman, J. M., Stone, W. S., Swerdlow, N. R., Tsuang, M. T., Turetsky, B. I. und Tsuang, D. W. (2010) 'Antisaccade performance in schizophrenia patients, their first-degree biological relatives, and community comparison subjects: data from the COGS study', *Psychophysiology*, 47(5), pp. 846-56.
- Rapoport, J. L., Addington, A. M., Frangou, S. und Psych, M. R. C. (2005) 'The neurodevelopmental model of schizophrenia: update 2005', *Mol Psychiatry*, 10(5), pp. 434-449.
- Rapoport, J. L., Giedd, J. N. und Gogtay, N. (2012) 'Neurodevelopmental model of schizophrenia: update 2012', *Mol Psychiatry*, 17(12), pp. 1228-38.
- Rashid, A. J., So, C. H., Kong, M. M., Furtak, T., El-Ghundi, M., Cheng, R., O'Dowd, B. F. und George, S. R. (2007) 'D1-D2 dopamine receptor heterooligomers with unique pharmacology are coupled to rapid activation of Gq/11 in the striatum', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104(2), pp. 654-9.
- Raust, A., Daban, C., Cochet, B., Henry, C., Bellivier, F. und Scott, J. (2014) 'Neurocognitive performance as an endophenotype for bipolar disorder', *Front Biosci (Elite Ed)*, 6, pp. 89-103.
- Reichenberg, A., Caspi, A., Harrington, H., Houts, R., Keefe, R. S. E., Murray, R. M., Poulton, R. und Moffitt, T. E. (2010) 'Static and Dynamic Cognitive Deficits in Childhood Preceding Adult Schizophrenia: A 30-Year Study', *The American journal of psychiatry*, 167(2), pp. 160-169.
- Reichenberg, A. und Harvey, P. D. (2007) 'Neuropsychological impairments in schizophrenia: Integration of performance-based and brain imaging findings', *Psychol Bull*, 133(5), pp. 833-58.
- Rethelyi, J. M., Benkovits, J. und Bitter, I. (2013) 'Genes and environments in schizophrenia: The different pieces of a manifold puzzle', *Neurosci Biobehav Rev*, 37(10 Pt 1), pp. 2424-37.
- Rice, J. P., Reich, T., Buchholz, K. K., Neuman, R. J., Fishman, R., Rochberg, N., Hesselbrock, V. M., L., N. J., Schuckit, M. A. und Begleiter, H. (1995) 'Comparison of direct interview and family history diagnoses of alcohol dependence', *Alcoholism, clinical and experimental research*, 19(4), pp. 1018 - 1023.
- Richter, V. und Guthke, J. (1996) *Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar: (LEBI) ; Handanweisung*. Hogrefe, Verlag für Psychologie.
- Ripke, S., Neale, B., Corvin, A., Walters, G. B., Holmans, P., Rujescu, D. und Gejman, P. V. (2014) 'Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci', *Nature*, 511(7510), pp. 421-427.

- Ripke, S. und O'Dushlaine, C. und Chambert, K. und Moran, J. L. und Kahler, A. K. und Akterin, S. und Bergen, S. E. und Collins, A. L. und Crowley, J. J. und Fromer, M. und Kim, Y. und Lee, S. H. und Magnusson, P. K. und Sanchez, N. und Stahl, E. A. und Williams, S. und Wray, N. R. und Xia, K. und Bettella, F. und Borglum, A. D. und Bulik-Sullivan, B. K. und Cormican, P. und Craddock, N. und de Leeuw, C. und Durmishi, N. und Gill, M. und Golimbet, V. und Hamshere, M. L. und Holmans, P. und Hougaard, D. M. und Kendler, K. S. und Lin, K. und Morris, D. W. und Mors, O. und Mortensen, P. B. und Neale, B. M. und O'Neill, F. A. und Owen, M. J. und Milovancevic, M. P. und Posthuma, D. und Powell, J. und Richards, A. L. und Riley, B. P. und Ruderfer, D. und Rujescu, D. und Sigurdsson, E. und Silagadze, T. und Smit, A. B. und Stefansson, H. und Steinberg, S. und Suvisaari, J. und Tosato, S. und Verhage, M. und Walters, J. T. und Levinson, D. F. und Gejman, P. V. und Kendler, K. S. und Laurent, C. und Mowry, B. J. und O'Donovan, M. C. und Owen, M. J. und Pulver, A. E. und Riley, B. P. und Schwab, S. G. und Wildenauer, D. B. und Dudbridge, F. und Holmans, P. und Shi, J. und Albus, M. und Alexander, M. und Campion, D. und Cohen, D. und Dikeos, D. und Duan, J. und Eichhammer, P. und Godard, S. und Hansen, M. und Lerer, F. B. und Liang, K. Y. und Maier, W. und Mallet, J. und Nertney, D. A. und Nestadt, G. und Norton, N. und O'Neill, F. A. und Papadimitriou, G. N. und Ribble, R. und Sanders, A. R. und Silverman, J. M. und Walsh, D. und Williams, N. M. und Wormley, B. und Arranz, M. J. und Bakker, S. und Bender, S. und Bramon, E. und Collier, D. und Crespo-Facorro, B. und Hall, J. und Iyegbe, C. und Jablensky, A. und Kahn, R. S. und Kalaydjieva, L. und Lawrie, S. und Lewis, C. M. und Lin, K. und Linszen, D. H. und Mata, I. und McIntosh, A. und Murray, R. M. und Ophoff, R. A. und Powell, J. und Rujescu, D. und Van Os, J. und Walshe, M. und Weisbrod, M. und Wiersma, D. und Donnelly, P. und Barroso, I. und Blackwell, J. M. und Bramon, E. und Brown, M. A. und Casas, J. P. und Corvin, A. P. und Deloukas, P. und Duncanson, A. und Jankowski, J. und Markus, H. S. und Mathew, C. G. und Palmer, C. N. und Plomin, R. und Rautanen, A. und Sawcer, S. J. und Trembath, R. C. und Viswanathan, A. C. und Wood, N. W. und Spencer, C. C. und Band, G. und Bellenguez, C. und Freeman, C. und Hellenthal, G. und Giannoulatou, E. und Pirinen, M. und Pearson, R. D. und Strange, A. und Su, Z. und Vukcevic, D. und Donnelly, P. und Langford, C. und Hunt, S. E. und Edkins, S. und Gwilliam, R. und Blackburn, H. und Bumpstead, S. J. und Dronov, S. und Gillman, M. und Gray, E. und Hammond, N. und Jayakumar, A. und McCann, O. T. und Liddle, J. und Potter, S. C. und Ravindrarajah, R. und Ricketts, M. und Tashakkori-Ghanbaria, A. und Waller, M. J. und Weston, P. und Widaa, S. und Whittaker, P. und Barroso, I. und Deloukas, P. und Mathew, C. G. und Blackwell, J. M. und Brown, M. A. und Corvin, A. P. und McCarthy, M. I. und Spencer, C. C. und Bramon, E. und Corvin, A. P. und O'Donovan, M. C. und Stefansson, K. und Scolnick, E. und Purcell, S. und McCarroll, S. A. und Sklar, P. und Hultman, C. M. und Sullivan, P. F. (2013) 'Genome-wide association analysis identifies 13 new risk loci for schizophrenia', *Nat Genet*, 45(10), pp. 1150-9.
- Rodriguez-Jimenez, R., Hoenicka, J., Jimenez-Arriero, M. A., Ponce, G., Bagney, A., Aragues, M. und Palomo, T. (2006) 'Performance in the Wisconsin Card Sorting Test and the C957T polymorphism of the DRD2 gene in healthy volunteers', *Neuropsychobiology*, 54(3), pp. 166-70.
- Ross, C. A., Margolis, R. L., Reading, S. A., Pletnikov, M. und Coyle, J. T. (2006) 'Neurobiology of schizophrenia', *Neuron*, 52(1), pp. 139-53.
- Ruby, E., Polito, S., McMahon, K., Gorovitz, M., Corcoran, C. und Malaspina, D. (2014) 'Pathways Associating Childhood Trauma to the Neurobiology of Schizophrenia', *Front Psychol Behav Sci*, 3(1), pp. 1-17.
- Saha, S., Chant, D. und McGrath, J. (2007) 'A systematic review of mortality in schizophrenia: is the differential mortality gap worsening over time?', *Arch Gen Psychiatry*, 64(10), pp. 1123-31.

- Saha, S., Chant, D., Welham, J. und McGrath, J. (2005) 'A systematic review of the prevalence of schizophrenia.'
- Saha, S., Welham, J., Chant, D. und McGrath, J. (2006) 'Incidence of schizophrenia does not vary with economic status of the country: evidence from a systematic review', *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol*, 41(5), pp. 338-40.
- Salamone, John D. und Correa, M. (2012) 'The Mysterious Motivational Functions of Mesolimbic Dopamine', *Neuron*, 76(3), pp. 470-485.
- Salmas, R. E., Yurtsever, M., Stein, M. und Durdagi, S. (2015) 'Modeling and protein engineering studies of active and inactive states of human dopamine D2 receptor (D2R) and investigation of drug/receptor interactions', *Mol Divers*.
- Sanders, A. R., Duan, J., Levinson, D. F., Shi, J., He, D., Hou, C., Burrell, G. J., Rice, J. P., Nertney, D. A., Olincy, A., Rozic, P., Vinogradov, S., Buccola, N. G., Mowry, B. J., Freedman, R., Amin, F., Black, D. W., Silverman, J. M., Byerley, W. F., Crowe, R. R., Cloninger, C. R., Martinez, M. und Gejman, P. V. (2008) 'No significant association of 14 candidate genes with schizophrenia in a large European ancestry sample: implications for psychiatric genetics', *Am J Psychiatry*, 165(4), pp. 497-506.
- Savill, M., Banks, C., Khanom, H. und Priebe, S. (2014) 'Do negative symptoms of schizophrenia change over time? A meta-analysis of longitudinal data', *Psychol Med*, pp. 1-15.
- Schaefer, J., Giangrande, E., Weinberger, D. R. und Dickinson, D. (2013) 'The global cognitive impairment in schizophrenia: consistent over decades and around the world', *Schizophr Res*, 150(1), pp. 42-50.
- Scherczinger, C. A., Bourke, M. T., Ladd, C. und Lee, H. C. (1997) 'DNA extraction from liquid blood using QIAamp', *J Forensic Sci*, 42(5), pp. 893-6.
- Seamans, J. K., Gorelova, N., Durstewitz, D. und Yang, C. R. (2001) 'Bidirectional dopamine modulation of GABAergic inhibition in prefrontal cortical pyramidal neurons', *J Neurosci*, 21(10), pp. 3628-38.
- Seamans, J. K. und Yang, C. R. (2004) 'The principal features and mechanisms of dopamine modulation in the prefrontal cortex', *Prog Neurobiol*, 74(1), pp. 1-58.
- Seeman, M. V. und Seeman, P. (2014) 'Is schizophrenia a dopamine supersensitivity psychotic reaction?()', *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 0, pp. 10.1016/j.pnpbp.2013.10.003.
- Seeman, P. (2010) 'Dopamine D2 receptors as treatment targets in schizophrenia', *Clin Schizophr Relat Psychoses*, 4(1), pp. 56-73.
- Seeman, P., Nam, D., Ulpian, C., Liu, I. S. und Tellerico, T. (2000) 'New dopamine receptor, D2(Longer), with unique TG splice site, in human brain', *Brain Res Mol Brain Res*, 76(1), pp. 132-41.
- Selten, J. P., Cantor-Graae, E. und Kahn, R. S. (2007) 'Migration and schizophrenia', *Curr Opin Psychiatry*, 20(2), pp. 111-5.
- Selten, J. P., van der Ven, E., Rutten, B. P. und Cantor-Graae, E. (2013) 'The social defeat hypothesis of schizophrenia: an update', *Schizophr Bull*, 39(6), pp. 1180-6.
- Sgouros, S., Goldin, J. H., Hockley, A. D., Wake, M. J. und Natarajan, K. (1999) 'Intracranial volume change in childhood', *J Neurosurg*, 91(4), pp. 610-6.
- Shi, J., Levinson, D. F., Duan, J., Sanders, A. R., Zheng, Y., Pe'er, I., Dudbridge, F., Holmans, P. A., Whittemore, A. S., Mowry, B. J., Olincy, A., Amin, F., Cloninger, C. R., Silverman, J. M., Buccola, N. G., Byerley, W. F., Black, D. W., Crowe, R. R., Oksenberg, J. R., Mirel, D. B., Kendler, K. S., Freedman, R. und Gejman, P. V. (2009) 'Common variants on chromosome 6p22.1 are associated with schizophrenia', *Nature*, 460(7256), pp. 753-7.
- Shi, L. und Javitch, J. A. (2004) 'The second extracellular loop of the dopamine D(2) receptor lines the binding-site crevice', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(2), pp. 440-445.

- Shi, Y., Li, Z., Xu, Q., Wang, T., Li, T., Shen, J., Zhang, F., Chen, J., Zhou, G., Ji, W., Li, B., Xu, Y., Liu, D., Wang, P., Yang, P., Liu, B., Sun, W., Wan, C., Qin, S., He, G., Steinberg, S., Cichon, S., Werge, T., Sigurdsson, E., Tosato, S., Palotie, A., Nothen, M. M., Rietschel, M., Ophoff, R. A., Collier, D. A., Rujescu, D., Clair, D. S., Stefansson, H., Stefansson, K., Ji, J., Wang, Q., Li, W., Zheng, L., Zhang, H., Feng, G. und He, L. (2011) 'Common variants on 8p12 and 1q24.2 confer risk of schizophrenia', *Nat Genet*, 43(12), pp. 1224-7.
- Siderovski DP; Willard FS. The GAPs, G., and GDIs of heterotrimeric G-protein alpha subunits. *Int J Biol Sci* 2005; 1:51-66. doi:10.7150/ijbs.1.51. Available from <http://www.ijbs.com/v01p0051.htm> 2005.
- Singer, V. L., Jones, L. J., Yue, S. T. und Haugland, R. P. (1997) 'Characterization of PicoGreen reagent and development of a fluorescence-based solution assay for double-stranded DNA quantitation', *Anal Biochem*, 249(2), pp. 228-38.
- Smiley, J. F., Levey, A. I., Ciliax, B. J. und Goldman-Rakic, P. S. (1994) 'D1 dopamine receptor immunoreactivity in human and monkey cerebral cortex: predominant and extrasynaptic localization in dendritic spines', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(12), pp. 5720-5724.
- Soderqvist, S., Matsson, H., Peyrard-Janvid, M., Kere, J. und Klingberg, T. (2014) 'Polymorphisms in the dopamine receptor 2 gene region influence improvements during working memory training in children and adolescents', *J Cogn Neurosci*, 26(1), pp. 54-62.
- Sørensen, H. J., Mortensen, E. L., Schiffman, J., Reinisch, J. M., Maeda, J. und Mednick, S. A. (2010) 'Early developmental milestones and risk of schizophrenia: A 45-year follow-up of the Copenhagen Perinatal Cohort', *Schizophrenia Research*, 118(1), pp. 41-47.
- Sporn, A. L., Greenstein, D. K., Gogtay, N., Jeffries, N. O., Lenane, M., Gochman, P., Clasen, L. S., Blumenthal, J., Giedd, J. N. und Rapoport, J. L. (2003) 'Progressive brain volume loss during adolescence in childhood-onset schizophrenia', *Am J Psychiatry*, 160(12), pp. 2181-9.
- Squire, L. R. und Zola-Morgan, A. J. (2015) 'Conscious and Unconscious Memory Systems', *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 7(3).
- Stefansson, H., Ophoff, R. A., Steinberg, S., Andreassen, O. A., Cichon, S., Rujescu, D., Werge, T., Pietilainen, O. P., Mors, O., Mortensen, P. B., Sigurdsson, E., Gustafsson, O., Nyegaard, M., Tuulio-Henriksson, A., Ingason, A., Hansen, T., Suvisaari, J., Lonnqvist, J., Paunio, T., Borglum, A. D., Hartmann, A., Fink-Jensen, A., Nordentoft, M., Hougaard, D., Norgaard-Pedersen, B., Bottcher, Y., Olesen, J., Breuer, R., Moller, H. J., Giegling, I., Rasmussen, H. B., Timm, S., Mattheisen, M., Bitter, I., Rethelyi, J. M., Magnusdottir, B. B., Sigmundsson, T., Olason, P., Masson, G., Gulcher, J. R., Haraldsson, M., Fossdal, R., Thorgeirsson, T. E., Thorsteinsdottir, U., Ruggeri, M., Tosato, S., Franke, B., Strengman, E., Kiemene, L. A., Melle, I., Djurovic, S., Abramova, L., Kaleda, V., Sanjuan, J., de Frutos, R., Bramon, E., Vassos, E., Fraser, G., Ettinger, U., Picchioni, M., Walker, N., Tzoulopoulou, T., Need, A. C., Ge, D., Yoon, J. L., Shianna, K. V., Freimer, N. B., Cantor, R. M., Murray, R., Kong, A., Golimbet, V., Carracedo, A., Arango, C., Costas, J., Jonsson, E. G., Terenius, L., Agartz, I., Petursson, H., Nothen, M. M., Rietschel, M., Matthews, P. M., Muglia, P., Peltonen, L., St Clair, D., Goldstein, D. B., Stefansson, K. und Collier, D. A. (2009) 'Common variants conferring risk of schizophrenia', *Nature*, 460(7256), pp. 744-7.
- Steinberg, S., de Jong, S., Andreassen, O. A., Werge, T., Borglum, A. D., Mors, O., Mortensen, P. B., Gustafsson, O., Costas, J., Pietilainen, O. P., Demontis, D., Papiol, S., Huttenlocher, J., Mattheisen, M., Breuer, R., Vassos, E., Giegling, I., Fraser, G., Walker, N., Tuulio-Henriksson, A., Suvisaari, J., Lonnqvist, J., Paunio, T., Agartz, I., Melle, I., Djurovic, S., Strengman, E., Jurgens, G., Glenthøj, B., Terenius, L., Hougaard, D. M.,

- Orntoft, T., Wiuf, C., Didriksen, M., Hollegaard, M. V., Nordentoft, M., van Winkel, R., Kenis, G., Abramova, L., Kaleda, V., Arrojo, M., Sanjuan, J., Arango, C., Sperling, S., Rossner, M., Ribolsi, M., Magni, V., Siracusano, A., Christiansen, C., Kiemeneij, L. A., Veldink, J., van den Berg, L., Ingason, A., Muglia, P., Murray, R., Nothen, M. M., Sigurdsson, E., Petursson, H., Thorsteinsdottir, U., Kong, A., Rubino, I. A., De Hert, M., Rethelyi, J. M., Bitter, I., Jonsson, E. G., Golimbet, V., Carracedo, A., Ehrenreich, H., Craddock, N., Owen, M. J., O'Donovan, M. C., Ruggeri, M., Tosato, S., Peltonen, L., Ophoff, R. A., Collier, D. A., St Clair, D., Rietschel, M., Cichon, S., Stefansson, H., Rujescu, D. und Stefansson, K. (2011) 'Common variants at VRK2 and TCF4 conferring risk of schizophrenia', *Hum Mol Genet*, 20(20), pp. 4076-81.
- Stephen, D. G. und Mirman, D. (2010) 'Interactions Dominate the Dynamics of Visual Cognition', *Cognition*, 115(1), pp. 154-165.
- Strauss, G. P., Horan, W. P., Kirkpatrick, B., Fischer, B. A., Keller, W. R., Miski, P., Buchanan, R. W., Green, M. F. und Carpenter, W. T., Jr. (2013) 'Deconstructing negative symptoms of schizophrenia: avolition-apathy and diminished expression clusters predict clinical presentation and functional outcome', *J Psychiatr Res*, 47(6), pp. 783-90.
- Sullivan, P. F., Daly, M. J. und O'Donovan, M. (2012) 'Genetic Architectures of Psychiatric Disorders: The Emerging Picture and Its Implications', *Nature reviews. Genetics*, 13(8), pp. 537-551.
- Sullivan, P. F., Kendler, K. S. und Neale, M. C. (2003) 'Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies', *Arch Gen Psychiatry*, 60(12), pp. 1187-92.
- Sunahara, R. K., Dessauer, C. W. und Gilman, A. G. (1996) 'Complexity and diversity of mammalian adenylyl cyclases', *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 36, pp. 461-80.
- Svensson, A. C., Lichtenstein, P., Sandin, S. und Hultman, C. M. (2007) 'Fertility of first-degree relatives of patients with schizophrenia: a three generation perspective', *Schizophr Res*, 91(1-3), pp. 238-45.
- Swerdlow, N. R., Gur, R. E. und Braff, D. L. (2015) 'Consortium on the Genetics of Schizophrenia (COGS) assessment of endophenotypes for schizophrenia: an introduction to this Special Issue of Schizophrenia Research', *Schizophr Res*, 163(1-3), pp. 9-16.
- Szatkiewicz, J. P., O'Dushlaine, C., Chen, G., Chambert, K., Moran, J. L., Neale, B. M., Fromer, M., Ruderfer, D., Akterin, S., Bergen, S. E., Kahler, A., Magnusson, P. K., Kim, Y., Crowley, J. J., Rees, E., Kirov, G., O'Donovan, M. C., Owen, M. J., Walters, J., Scolnick, E., Sklar, P., Purcell, S., Hultman, C. M., McCarroll, S. A. und Sullivan, P. F. (2014) 'Copy number variation in schizophrenia in Sweden', *Mol Psychiatry*, 19(7), pp. 762-73.
- Takahashi, H., Yamada, M. und Suhara, T. (2012) 'Functional significance of central D1 receptors in cognition: beyond working memory', *J Cereb Blood Flow Metab*, 32(7), pp. 1248-58.
- Tandon, R., Keshavan, M. S. und Nasrallah, H. A. (2008) 'Schizophrenia, "just the facts" what we know in 2008. 2. Epidemiology and etiology', *Schizophr Res*, 102(1-3), pp. 1-18.
- Tang, B., Thornton-Wells, T. und Askland, K. D. (2011) 'Comparative linkage meta-analysis reveals regionally-distinct, disparate genetic architectures: application to bipolar disorder and schizophrenia', *PLoS One*, 6(4), pp. e19073.
- Tatusova, T., Ciufo, S., Fedorov, B., O'Neill, K. und Tolstoy, I. (2014) 'RefSeq microbial genomes database: new representation and annotation strategy', *Nucleic Acids Res*, 42(Database issue), pp. D553-9.
- Test, M. A., Burke, S. S. und Wallisch, L. S. (1990) 'Gender differences of young adults with schizophrenic disorders in community care', *Schizophr Bull*, 16(2), pp. 331-44.
- Tewes, U. (1991) *Hamburg-Wechsler-Intelligenz-Test für Erwachsene. Revision 1991. Handbuch und Testanweisung*. Bern: Huber.

- Thompson, B. L. und Levitt, P. (2010) 'Now you see it, now you don't--closing in on allostasis and developmental basis of psychiatric disorders', *Neuron*, 65(4), pp. 437-9.
- Traynelis, S. F., Wollmuth, L. P., McBain, C. J., Menniti, F. S., Vance, K. M., Ogden, K. K., Hansen, K. B., Yuan, H., Myers, S. J. und Dingledine, R. (2010) 'Glutamate receptor ion channels: structure, regulation, and function', *Pharmacol Rev*, 62(3), pp. 405-96.
- Trevisi, M., Talamo, A., Bandinelli, P. L., Ducci, G., Kotzalidis, G. D., Santucci, C., Manfredi, G., Girardi, N. und Tatarelli, R. (2012) 'Insight and awareness as related to psychopathology and cognition', *Psychopathology*, 45(4), pp. 235-43.
- Turetsky, B. I., Greenwood, T. A., Olincy, A., Radant, A. D., Braff, D. L., Cadenhead, K. S., Dobie, D. J., Freedman, R., Green, M. F., Gur, R. E., Gur, R. C., Light, G. A., Mintz, J., Nuechterlein, K. H., Schork, N. J., Seidman, L. J., Siever, L. J., Silverman, J. M., Stone, W. S., Swerdlow, N. R., Tsuang, D. W., Tsuang, M. T. und Calkins, M. E. (2008) 'Abnormal Auditory N100 Amplitude: A Heritable Endophenotype in First-Degree Relatives of Schizophrenia Probands', *Biological psychiatry*, 64(12), pp. 1051-1059.
- Usiello, A., Baik, J. H., Rouge-Pont, F., Picetti, R., Dierich, A., LeMeur, M., Piazza, P. V. und Borrelli, E. (2000) 'Distinct functions of the two isoforms of dopamine D2 receptors', *Nature*, 408(6809), pp. 199-203.
- Vallone, D., Picetti, R. und Borrelli, E. (2000) 'Structure and function of dopamine receptors', *Neurosci Biobehav Rev*, 24(1), pp. 125-32.
- van Os, J., Kenis, G. und Rutten, B. P. (2010) 'The environment and schizophrenia', *Nature*, 468(7321), pp. 203-12.
- Varese, F., Smeets, F., Drukker, M., Lieverse, R., Lataster, T., Viechtbauer, W., Read, J., van Os, J. und Bentall, R. P. (2012) 'Childhood adversities increase the risk of psychosis: a meta-analysis of patient-control, prospective- and cross-sectional cohort studies', *Schizophr Bull*, 38(4), pp. 661-71.
- Vaskinn, A., Sundet, K., Simonsen, C., Hellvin, T., Melle, I. und Andreassen, O. A. (2011) 'Sex differences in neuropsychological performance and social functioning in schizophrenia and bipolar disorder', *Neuropsychology*, 25(4), pp. 499-510.
- Vercammen, A., Weickert, C. S., Skilleter, A. J., Lenroot, R., Schofield, P. R. und Weickert, T. W. (2014) 'Common polymorphisms in dopamine-related genes combine to produce a 'schizophrenia-like' prefrontal hypoactivity', *Transl Psychiatry*, 4, pp. e356.
- Villalta-Gil, V., Vilaplana, M., Ochoa, S., Haro, J. M., Dolz, M., Usall, J. und Cervilla, J. (2006) 'Neurocognitive performance and negative symptoms: are they equal in explaining disability in schizophrenia outpatients?', *Schizophr Res*, 87(1-3), pp. 246-53.
- Walder, D. J., Faraone, S. V., Glatt, S. J., Tsuang, M. T. und Seidman, L. J. (2014) 'Genetic liability, prenatal health, stress and family environment: risk factors in the Harvard Adolescent Family High Risk for schizophrenia study', *Schizophr Res*, 157(1-3), pp. 142-8.
- Walters, J. T. und Owen, M. J. (2007) 'Endophenotypes in psychiatric genetics', *Mol Psychiatry*, 12(10), pp. 886-90.
- Wang, K. S., Liu, X. F. und Aragam, N. (2010) 'A genome-wide meta-analysis identifies novel loci associated with schizophrenia and bipolar disorder', *Schizophr Res*, 124(1-3), pp. 192-9.
- Wechsler, D. (1987) *Wechsler Memory Scale - Revised. Manual*. San Antonio: TX: The Psychological Corporation.
- Wittchen, H. U., Zaudig, M. und T., F. (1997) *Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV*. Göttingen: Hogrefe, Verlag für Psychologie.
- Woodberry, K. A., Giuliano, A. J. und Seidman, L. J. (2008) 'Premorbid IQ in schizophrenia: a meta-analytic review', *Am J Psychiatry*, 165(5), pp. 579-87.

- Woodberry, K. A., Serur, R. A., Hallinan, S. B., Mesholam-Gately, R. I., Giuliano, A. J., Wojcik, J. D., Keshavan, M. S., Frazier, J. A., Goldstein, J. M., Shenton, M. E., McCarley, R. W. und Seidman, L. J. (2014) 'Frequency and pattern of childhood symptom onset reported by first episode schizophrenia and clinical high risk youth', *Schizophr Res*, 158(1-3), pp. 45-51.
- Wright, J. (2014) 'Genetics: Unravelling complexity', *Nature*, 508(7494), pp. S6-S7.
- Xu, H., Kellendonk, C. B., Simpson, E. H., Keilp, J. G., Bruder, G. E., Polan, H. J., Kandel, E. R. und Gilliam, T. C. (2007) 'DRD2 C957T polymorphism interacts with the COMT Val158Met polymorphism in human working memory ability', *Schizophr Res*, 90(1-3), pp. 104-7.
- Xu, T. X., Sotnikova, T. D., Liang, C., Zhang, J., Jung, J. U., Spealman, R. D., Gainetdinov, R. R. und Yao, W. D. (2009) 'Hyperdopaminergic tone erodes prefrontal long-term potential via a D2 receptor-operated protein phosphatase gate', *J Neurosci*, 29(45), pp. 14086-99.
- Yang, Y. K., Yeh, T. L., Chiu, N. T., Lee, I. H., Chen, P. S., Lee, L. C. und Jeffries, K. J. (2004) 'Association between cognitive performance and striatal dopamine binding is higher in timing and motor tasks in patients with schizophrenia', *Psychiatry Res*, 131(3), pp. 209-16.
- Yao, J., Pan, Y. Q., Ding, M., Pang, H. und Wang, B. J. (2015a) 'Association between DRD2 (rs1799732 and rs1801028) and ANKK1 (rs1800497) polymorphisms and schizophrenia: a meta-analysis', *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 168b(1), pp. 1-13.
- Yao, J., Pan, Y. Q., Ding, M., Pang, H. und Wang, B. J. (2015b) 'Association between DRD2 (rs1799732 and rs1801028) and ANKK1 (rs1800497) polymorphisms and schizophrenia: A meta-analysis', *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 168(1), pp. 1-13.
- Yeo, R. A., Gangestad, S. W., Walton, E., Ehrlich, S., Pommy, J., Turner, J. A., Liu, J., Mayer, A. R., Schulz, S. C., Ho, B. C., Bustillo, J. R., Wassink, T. H., Sponheim, S. R., Morrow, E. M. und Calhoun, V. D. (2014) 'Genetic influences on cognitive endophenotypes in schizophrenia', *Schizophr Res*, 156(1), pp. 71-5.
- Zammit, S., Lewis, G., Rasbash, J., Dalman, C., Gustafsson, J. E. und Allebeck, P. (2010) 'Individuals, schools, and neighborhood: a multilevel longitudinal study of variation in incidence of psychotic disorders', *Arch Gen Psychiatry*, 67(9), pp. 914-22.
- Zhang, Y., Bertolino, A., Fazio, L., Blasi, G., Rampino, A., Romano, R., Lee, M. L., Xiao, T., Papp, A., Wang, D. und Sadee, W. (2007) 'Polymorphisms in human dopamine D2 receptor gene affect gene expression, splicing, and neuronal activity during working memory', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104(51), pp. 20552-7.
- Zhou, Y., Rosenheck, R., Mohamed, S., Zhang, J., Chang, Q., Ou, Y., Sun, B., Ning, Y. und He, H. (2014) 'Insight in inpatients with schizophrenia: Relationship to symptoms and neuropsychological functioning', *Schizophr Res*.
- Zipursky, R. B., Reilly, T. J. und Murray, R. M. (2013) 'The myth of schizophrenia as a progressive brain disease', *Schizophr Bull*, 39(6), pp. 1363-72.

8 Danksagung

Ich danke meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Rujescu, für die Durchführung der Doktorarbeit unter seiner Verantwortung.

Ebenso danke ich Frau Dr. rer. biol. hum. I. Giegling für die Betreuung der Doktorarbeit.

Besonderer Dank gebührt Frau Dr. rer. biol. hum. A. Hartmann, deren hervorragende Betreuung und stetige Hilfe maßgeblich zum Gelingen der Arbeit beigetragen hat.

Mein tiefster Dank gilt meinen Eltern für die immerwährende und vorbehaltlose Unterstützung in allen Lebenslagen.

Zuletzt danke ich allen meinen Freunden für ihre Unterstützung und Motivation in schweren Zeit.

9 Eidesstattliche Versicherung

Ich erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema „Das DRD2-Gen und seine Bedeutung in der Schizophrenie“ selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Regensburg, den 28.12.2018

Bunk, Alexander Joerg